

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie v přírodních vědách



Veronika Sutrová

**VÝVOJ A TESTOVÁNÍ NOVÝCH TYPŮ AKTIVNÍCH POVRCHŮ PRO
STUDIUM POVRCHEM-MODIFIKOVANÝCH OPTICKÝCH PROCESŮ
BIOLOGICKY VÝZNAMNÝCH MOLEKUL**

Development and testing of new types of active surfaces for investigation of surface-
modified optical processes of biologically important molecules

Bakalářská práce

Školitel: prof. RNDr. Blanka Vlčková, Csc.

Školitel-konzultant: RNDr. Ivana Šloufová, PhD.

RNDr. Petr Šmejkal, PhD.

Praha, 2013

Abstrakt

Hydrosoly stříbrných nanočástic ($\text{AgN}\check{\text{C}}$) připravené redukcí AgNO_3 buď NaBH_4 (BH hydrosol $\text{AgN}\check{\text{C}}$), nebo $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (HA hydrosol $\text{AgN}\check{\text{C}}$) modifikované přidavkem HCl byly charakterizovány spektry plasmonové extinkce a transmisní elektronovou mikroskopií a jejich SERS (Surface-enhanced Raman Scattering) aktivita byla otestována měřením SERS a SERRS (Surface-enhanced Resonance Raman Scattering) spekter testovacích adsorbátů 2,2-bipyridylu (bpy) a 5,10,15,20-terakis(1-methyl-4-pyridiumyl)-21H,23H-porfinu (H_2TMPyP) a určením jejich SERS nebo SERRS spektrální mezí detekce při $\lambda_{\text{exc}} = 532 \text{ nm}$. Pro oba typy hydrosolů $\text{AgN}\check{\text{C}}$ bylo zjištěno, že přidavkem HCl a následným přidavkem adsorbátu dochází k přerůstání $\text{AgN}\check{\text{C}}$ a rovněž k tvorbě jejich kompaktních agregátů spojených s tvorbou $\text{Ag}(0)$ adsorpčních míst. Mez detekce bpy v makroskopickém uspořádání v kyvetě činila v systému HA hydrosol $\text{AgN}\check{\text{C}}/\text{HCl}/\text{bpy}$ $1\cdot 10^{-9} \text{ M}$ a v systému BH hydrosol $\text{AgN}\check{\text{C}}/\text{HCl}/\text{bpy}$ $1\cdot 10^{-8} \text{ M}$ přičemž detegovanou formou je $\text{Ag}(0)$ povrchový komplex. O 1 řád nižší mez detekce bpy v systému s HA hydrosol $\text{AgN}\check{\text{C}}$ je připsána účinnějšímu přerůstání $\text{AgN}\check{\text{C}}$ v HA hydrosolu a tudíž účinnější tvorbou „hot spots“ a jeho větší extinkcí při 532 nm. Mez detekce H_2TMPyP je v obou hydrosolových systémech stejná, a to $1\cdot 10^{-7} \text{ M}$. Důvodem jsou zřejmě ztráty signálu způsobené částečnou sedimentací agregátů ze systému HA hydrosol $\text{AgN}\check{\text{C}}/\text{HCl}/\text{H}_2\text{TMPyP}$ ($c = 1\cdot 10^{-7} \text{ M}$). Dále byla vyvinuta a otestována metodika měření SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů z jediného vybraného agregátu gravitačně sedimentovaného ze systému HA hydrosol $\text{AgN}\check{\text{C}}/\text{HCl}/\text{adsorbát}$ a převrstveného tenkou vrstvou vodné fáze. Agregáty schopné rychlé gravitační sedimentace ve vodném prostředí lze získat pouze pro systémy s HA hydrosoly, a to spontánní agregací v mikroskopické a asistovanou agregací v makroskopické formě. V makroskopických agregátech byla detegována povrchová species $\text{Ag}(0)$ -bpy s mezí detekce $1\cdot 10^{-10} \text{ M}$ a směs volné a metalovaných forem H_2TMPyP s mezí detekce $1\cdot 10^{-7} \text{ M}$. Měření SERS a SERRS spekter z vodou převrstvených gravitačně sedimentovaných agregátů má oproti jiným systémům s imobilizovanými $\text{AgN}\check{\text{C}}$ výhodu v absenci jakýkoliv rušivých pásů způsobených např. rozkladem adsorbátu. Metodika se jeví být vhodná zejména pro měření SERS a SERRS spekter chemisorbovaných adsorbátů schopných stabilizace $\text{Ag}(0)$ adsorpčních míst, a lze předpokládat, že z hlediska biologicky významných molekul by byla vhodná pro studium povrchem modifikovaných optických procesů kationtových metaloporfyrinů.

Klíčová slova: 2,2'-bipyridyl; 5,10,15,20-tetrakis(1-methyl-4-pyridiumyl)porfin; povrchem zesílený Ramanův rozptyl; SERS; povrchem zesílený rezonanční Ramanův rozptyl; SERRS; agregát; Ag nanočástice

Abstract

Hydrosols of silver nanoparticles (AgNPs) prepared by reduction of AgNO_3 by either NaBH_4 (BH-AgNP hydrosol), or $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (HA-AgNP hydrosol) modified by the addition of HCl were characterized by SPE spectra (SPE = surface plasmon extinction) and transmission electron microscopy, and their SERS (Surface-enhanced Raman Scattering) activity was tested by measuring the SERS or SERRS (Surface-enhanced Resonance Raman Scattering) spectra of 2,2'-bipyridine (bpy) and 5,10,15,20-Tetrakis(1-methyl-4-pyridinio)-21H,23H-porphine (H_2TMPyP) testing adsorbates and by determining of their SERS and SERRS spectral detection limits at $\lambda_{\text{exc}} = 532$ nm. For both types of AgNP hydrosols, it was found that the addition of HCl and the addition of testing adsorbate leads to an intergrowth of AgNPs and to the formation of their compact aggregates, in combination with the formation of new Ag(0) adsorption sites. The limit of detection in a macrosampling setup was $1\cdot 10^{-9}$ M in the system HA-AgNP hydrosol /HCl/bpy and $1\cdot 10^{-5}$ M in the system BH AgNP hydrosol/HCl/bpy and, in both cases the Ag(0)-bpy surface complex was detected. About one order of magnitude lower detection limit of bpy in the system with HA-AgNP hydrosol is caused by the efficient intergrowth of AgNP in HA-hydrosol resulting into an efficient formation of "hot spots" and a higher extinction of the system at 532 nm. Detection limit of H_2TMPyP is the same in both systems and its value is $1\cdot 10^{-7}$ M. The reason for this is probably a signal loss caused by a partial sedimentation of aggregates in the active system HA-AgNP hydrosol /HCl/ H_2TMPyP ($c = 1\cdot 10^{-7}$ M). A new method of measuring SERS and SERRS spectra of testing adsorbates from one selected aggregate gravitationally sedimented from the system HA-AgNP hydrosol /HCl/adsorbate and overlaid by a thin layer of aqueous phase was developed and tested. Aggregates which are able to sediment in the aqueous medium can be obtained only from the HA- hydrosol. In the macroscopic aggregates containing $1\cdot 10^{-10}$ M bpy, the Ag(0)-bpy surface species was detected and in the aggregates containing $1\cdot 10^{-7}$ M H_2TMPyP a mixture of the free base porphyrin and the metalated forms of H_2TMPyP was detected. The advantage of SERS and SERRS spectral measurements from aggregates with the thin layer of water which are gravitationally sedimented over the measurements from another types of immobilized AgNP systems is the absence of any spurious bands caused by a thermal degradation of testing adsorbates. This method is thus suitable for measuring SERS and SERRS spectra of chemisorbed adsorbates which are able to stabilize Ag(0) adsorption sites. It can be assumed that this method will be suitable for studies of surface-modified optical processes in cationic metalloporphyrins.

Key words: 2,2'-bipyridine; 5,10,15,20-Tetrakis(1-methyl-4-pyridinio)porphyrin; Surface-enhanced Raman Scattering; SERS; Surface-enhanced resonance Raman Scattering; SERRS; aggregate; Ag nanoparticles

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 28. 5. 2013

Podpis

Poděkování

Chtěla bych poděkovat své školitelce prof. RNDr. Blance Vlčkové, CSc. za trpělivost, odborné vedení práce, vstřícnost a cenné rady, které mi vždy ochotně poskytla. Dále bych chtěla za rady poděkovat svému konzultantovi RNDr. Petru Šmejkalovi, PhD., a také bych chtěla poděkovat své konzultantce RNDr. Ivaně Šloufové, PhD. za pomoc při měření SERS a SERRS spekter, za cenné rady a za technické zázemí v laboratoři. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Markétě Kokoškové za podporu a cenné rady, a také paní Jiřině Hromádkové za měření na transmisním elektronovém mikroskopu.

Obsah

Abstrakt	2
Abstract.....	3
Prohlášení	4
Poděkování	5
1. Úvod	9
2. Teoretická část	10
2.1. Spektroskopie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu	10
2.1.1. Mechanismy povrchového zesílení Ramanova rozptylu	10
2.1.1.1. Elektromagnetický mechanismus	11
2.1.1.2 Mechanismus molekulární rezonance	12
2.2. Hydrosoly stříbrných nanočástic	13
2.3. Testovací adsorbáty	15
2.3.1. 2,2'-bipyridyl.....	15
2.3.1. 5,10,15,20-tetrakis-(1-methyl-4-pyridiumyl)-21H,23H-porfin	16
3. Cíle práce	19
4. Experimentální část	20
4.1. Použité chemikálie a nádobí	20
4.1.1. Chemikálie	20
4.1.2. Chemické nádobí	20
4.2. Příprava hydrosolů AgNČ a aktivních systémů.....	21
4.2.1. Příprava hydrosolu Ag nanočástic redukcí dusičnanu stříbrného tetrahydridoboritanem sodným (BH).....	21
4.2.2. Příprava hydrosolu Ag nanočástic redukcí dusičnanu stříbrného chloridem hydroxylamonným (hydroxylamin hydrochloridem, HA).....	21
4.2.3. Příprava aktivních systémů pro měření koncentrační závislosti SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů	22

4.2.4. Příprava aktivních systémů pro měření SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů z vodnou fází převrstvených sedimentovaných agregátů AgNČ na mikroskopickém podložním sklíčku	22
4.2.4.1 Příprava aktivních systémů obsahující mikroskopické agregáty pro měření koncentrační závislosti SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů..	23
4.2.4.2 Příprava aktivních systémů obsahující makroskopické agregáty pro měření koncentrační závislosti SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů..	23
4.2.4.3 Příprava vzorku pro měření rezonančních Ramanových spekter porfyriu H ₂ TMPyP.....	24
4.3. Příprava sítěk a vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii (TEM).....	24
4.4. Stanovení povrchového pokrytí AgNČ molekulami adsorbátu	25
4.5. Použité instrumentální metody	26
4.5.1. Rezonanční Ramanova spektroskopie a spektroskopie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu	26
4.5.2. Absorpční spektroskopie v ultrafialové a viditelné oblasti.....	26
4.5.3. Transmisní elektronová mikroskopie.....	26
4.6 Zpracování a vyhodnocování spekter a určování mezí SERS a SERRS spektrální detekce	26
5. Výsledky a diskuze.....	27
5.1. Prezentace a vyhodnocování SERS spekter testovacích adsorbátů	27
5.2. Charakterizace systémů HA hydroso AgNČ/HCl/adsorbát a BH hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát: UV/vis spektra, TEM snímky, SERS a SERRS spektra testovacích adsorbátů	28
5.2.1. SERS spektra systémů BH hydrosol AgNČ/HCl/bpy a HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy jako funkce koncentrace bpy v systému a určení meze SERS spektrální detekce bpy	34
5.2.2. SERRS spektra systémů BH hydrosol AgNČ/HCl/H ₂ TMPyP a HA hydrosol AgNČ/HCl/H ₂ TMPyP a určení mezí SERS spektrální detekce porfyriu	37
5.2.3. Vzájemné srovnání systémů s chloridy modifikovanými HA a BH hydrosoly a použitými testovacími adsorbáty	39

5.3. Měření SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů z mikroskopických agregátů v systémech HA hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát	40
5.3.1. SERS spektra bpy měřená z jednotlivých mikroskopických agregátů jako funkce koncentrace bpy v systému a určení meze SERS spektrální detekce bpy ..	40
5.3.2. SERRS spektra H ₂ TMPyP měřená z jednotlivých mikroskopických agregátů jako funkce koncentrace H ₂ TMPyP v systému a určení meze SERRS spektrální detekce H ₂ TMPyP.....	43
5.4. Měření SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů z jednotlivých makroskopických agregátů v systémech HA hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát.....	45
5.4.1. SERS spektra bpy měřená z makroskopických agregátů jako funkce bpy v systému a určení meze SERS spektrální detekce.....	45
5.4.2. SERRS spektra H ₂ TMPyP měřená z makroskopických agregátů jako funkce koncentrace H ₂ TMPyP v systému a určení meze SERRS spektrální detekce	48
5.5. Výhody a nevýhody SERS a SERRS spektrálních měření z gravitačně sedimentovaných agregátů převrstvených tenkou vrstvou vodné fáze v systémech HA hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát.....	49
6. Závěr	52
7 Seznam použité literatury	54
8. Seznam zkratk	56

1. Úvod

Stříbrné a zlaté nanočástice (NČ) či jejich soubory se vyznačují jedinečnou schopností soustřeďovat viditelné záření do nanometrových rozměrů a fungovat tak jako zesilovače záření. Této schopnosti využívá obor nanověd nazývaný plasmonika [1].

Zesílení Ramanova rozptylu molekul umístěných na površích (či v blízkosti povrchu) nanočástic plasmonických kovů (tj. Ag a Au NČ) nebo začleněných do jejich souborů využívá spektroskopie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu (SERS spektroskopie, SERS = Surface-enhanced Raman Scattering), která se za více než 30 let svého rozvoje vyvinula v široce využívanou spektro-analytickou metodu s možností detekce na úrovni jedné molekuly [1 – 7]. Současná úroveň znalostí o mechanismech SERSu umožňuje vysvětlit i obrovská zesílení signálu Ramanova rozptylu faktorem až $1 \cdot 10^{14}$ pro molekuly umístěné v dimérech AgNČ [8,9]. Naproti tomu další optické procesy, konkrétně luminiscence a fotochemie molekul umístěných v systémech s plasmonickými NČ mohou být dle konkrétních podmínek buď zesíleny, nebo zhaseny [1,9].

Ukazuje se, že vhodným postupem pro testování nových typů povrchů pro studium povrchem modifikovaných optických procesů je SERS spektroskopie vhodně zvolených testovacích adsorbátů. Prostřednictvím SERS spekter lze získat informace o lokalizaci adsorbátů v blízkosti povrchu plasmonických NČ, způsobu interakce adsorbátů s povrchem NČ nebo je možné získat informace o přítomnosti Ag^+ či $\text{Ag}(0)$ adsorpčních místech na površích NČ [10 – 13].

Předkládaná práce je zaměřena na testování dosud méně využívaného typu hydrosolu AgNČ připraveného redukcí AgNO_3 pomocí $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ [14] a to po další cílené modifikaci povrchů AgNČ adsorpcí chloridů, která dosud nebyla studována. Jako testovací adsorbáty byly zvoleny N – báze 2,2-bipyridyl (bpy) jako sonda na přítomnost Ag^+ a $\text{Ag}(0)$ adsorpčních míst [15] a porfyrin volné báze H_2TMPyP , který představuje biologicky významnou molekulu, u níž zachování nebo narušení její nativní struktury lze jednoznačně určit na základě rozboru SERS nebo SERRS (SERRS = Surface-enhanced Resonance Raman Scattering) spekter [16]. SERS spektrální testování hydrosolu AgNČ je doplněno studiem spekter plasmonové extinkce (SPE spektra, SPE = Surface Plasmon Extinction) a transmisí elektronovou mikroskopií (TEM). Získané výsledky dále vyústily ve vývoj nové metodiky měření SERS a SERRS spekter adsorbátů z jednoho vybraného agregátu AgNČ.

2. Teoretická část

2.1. Spektroskopie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu

Spektroskopie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu je dnes velmi dobře prozkoumaná analytická metoda, patřící mezi vibračně – spektroskopické metody. Je založena na jevu nazývaném povrchem zesílený Ramanův rozptyl, který má původ v současné interakci viditelného záření s nanostrukturami plasmonických kovů (např. Ag nebo Au) a s molekulami lokalizovaným na jejich površích. SERS a SERRS spektroskopie kombinuje selektivitu všech vibračně – spektroskopických metod s velkou citlivostí a díky ní je možné dosáhnout spektrální detekce až na úrovni jedné molekuly.

Literatura, která byla použita na výklad mechanismů SERSu v kapitole 2.1.1. a jejích podkapitolách, je uvedena v citacích [1 – 7, 17].

2.1.1. Mechanismy povrchového zesílení Ramanova rozptylu

Intenzita Ramanova rozptylu I je dána vztahem:

$$I \sim |\vec{P}|^2, \quad (2.1)$$

kde \vec{P} je indukovaný dipólový moment. Indukovaný dipólový moment je dán vztahem:

$$\vec{P} = \alpha \cdot \vec{E}_0, \quad (2.2)$$

kde α je tenzor polarizovatelnosti molekuly a \vec{E}_0 je intenzita elektrického pole dopadajícího záření. Intenzitu elektrického pole lze zvýšit jednak zvýšením intenzity elektrického pole dopadajícího záření \vec{E}_0 v místě, kde je lokalizovaná molekula a dále lze intenzitu elektrického pole zvýšit zvýšením polarizovatelnosti molekuly α .

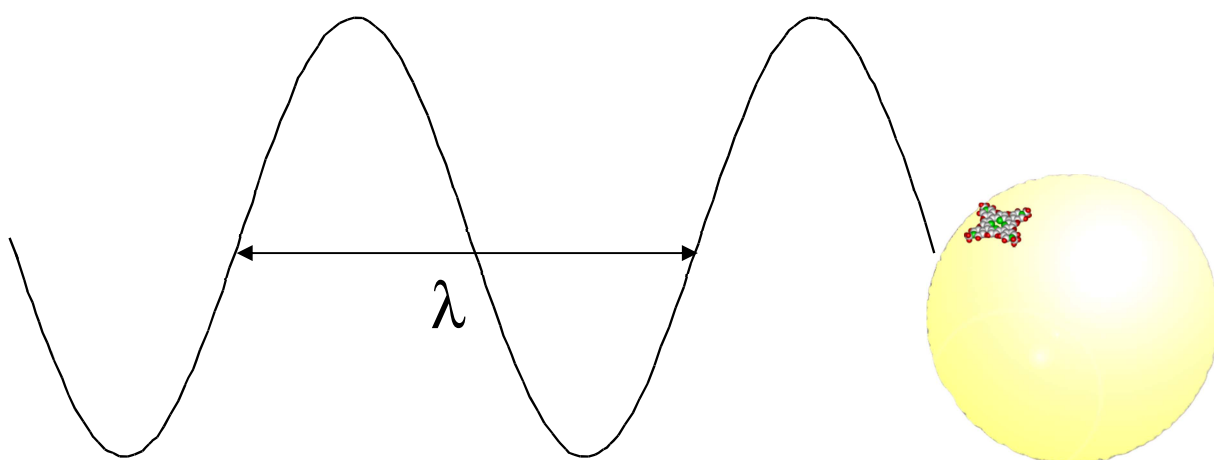
Poměrem intenzit SERS signálu I_{SERS} a signálu Ramanova rozptylu I_{RS} za stejného počtu rozptylujících molekul N je vyjádřen faktor celkového zesílení Ramanova rozptylu G :

$$G = \frac{I_{(SERS)N}}{I_{(RS)N}}. \quad (2.3)$$

Faktor celkového zesílení Ramanova rozptylu je složen z příspěvků dvou hlavních mechanismů povrchem zesíleného Ramanova rozptylu, kterými jsou elektromagnetický mechanismus a mechanismus molekulární rezonance.

2.1.1.1. Elektromagnetický mechanismus

Elektromagnetický mechanismus (EM) je základní mechanismus SERSu. Faktor zesílení EM mechanismem se pohybuje v rozmezí $10^4 - 10^{11}$. Jako nejjednodušší modelový systém pro výklad EM mechanismu byl zvolen model izolované, sférické Ag nanočástice, jejichž velikost je 5 – 20 nm (obr. 1). Při ozáření AgNČ zářením o konkrétní vlnové délce, při které je splněna podmínka rezonančního Mieova rozptylu tj. podmínka rezonanční excitace povrchového plasmonu, začnou vodivostní elektrony uvnitř částice nuceně kmitat se stejnou frekvencí jako je frekvence dopadajícího záření, čímž dojde ke vzniku oscilujícího dipólu. Této excitaci je připsána kvazičástice nazývaná povrchový plasmon.



Obr. 1: Schématické znázornění modelu plasmonická nanočástice – molekula

Velikost dipólu je dána dipólovým momentem, který je dán vztahem:

$$\vec{P} = g \cdot r^3 \cdot \vec{E}_0 \quad (2.4)$$

kde \vec{E}_0 je intenzita dopadajícího záření, r je poloměr kovové NČ a g je faktor zesílení dopadajícího záření, který je dán vztahem:

$$g = \frac{\varepsilon(\lambda) - \varepsilon_m}{\varepsilon(\lambda) + 2\varepsilon_m}, \quad (2.5)$$

kde $\varepsilon(\lambda)$ je relativní komplexní permitivita (dielektrická funkce) kovu a ε_m je relativní permitivita (dielektrická konstanta) prostředí. Hodnotu komplexní permitivity kovu lze vypočítat dle vztahů:

$$\varepsilon(\lambda) = N^2(\lambda) \quad (2.6)$$

$$N(\lambda) = n + ik, \quad (2.7)$$

kde $N(\lambda)$ je komplexní index lomu kovu, n je index lomu a k je index absorpce. Vzniklý oscilující dipól vyzařuje záření, jehož intenzita je úměrná čtverci velikosti toho dipólu:

$$I = |\vec{P}|^2. \quad (2.8)$$

Maximální hodnoty intenzity záření je dosaženo při splnění rezonanční podmínky, kdy reálná část relativní komplexní permitivity kovu nanočástice odpovídá vztahu 2.9:

$$\text{Re } \varepsilon(\lambda) = -2\varepsilon_m \quad (2.9)$$

a imaginární část, která odpovídá míře tlumení rezonance, odpovídá vztahu 2.10:

$$\text{Im } \varepsilon(\lambda) \rightarrow 0. \quad (2.10)$$

Pro systém izolovaných AgNČ o velikosti 5 – 20 nm ve vodě je tato podmínka splněna při $\lambda_{\text{exc}} = 390$ nm a v systému izolovaných AuNČ o velikosti 5 – 20 nm ve vodě je tato podmínka splněna při $\lambda_{\text{exc}} = 520$ nm. Pokud je splněna tato podmínka, NČ fungují jako optické zesilovače.

2.1.1.2 Mechanismus molekulární rezonance

Mechanismus molekulární rezonance je závislý na struktuře studované molekuly, je tedy molekulárně specifický. Poskytuje výrazně nižší zesílení než EM mechanismus, jelikož faktor zesílení mechanismem molekulární rezonance je $10^2 - 10^3$. K mechanismu molekulární rezonance dochází v případě, když je vlnová délka vhodná jak k excitaci dipolárního povrchového plasmonu, tak je také vhodná k excitaci dovoleného elektronového přechodu v adsorbované molekule. V závislosti na tom, zda je adsorbovaná molekula chromoforem či nikoliv rozeznáváme při dané λ_{exc} dva typy příspěvků k mechanismu molekulární rezonance.

2.1.1.2.1 Nechromoforové molekuly – Chemický mechanismus SERSu

Pro působení chemického mechanismu je důležité, aby vznikl povrchový komplex kov – adsorbát. Základní podmínkou tedy je chemisorbce molekuly adsorbátu k povrchu kovové NČ. Dále musí být splněna rezonanční podmínka, tj. λ_{exc} musí splňovat rezonanční podmínku pro excitaci elektronového přechodu fotoindukovaného přenosu náboje v nově vzniklém povrchovém komplexu. Tato podmínka pak musí být splněna současně s rezonanční podmínkou pro excitaci povrchového plasmonu.

2.1.1.2.2 Chromoforové molekuly – Povrchem zesílený rezonanční Ramanův rozptyl (SERRS)

Mechanismus molekulární rezonance působí v případech, kdy použitá excitační vlnová délka splňuje rezonanční podmínku povrchového plasmonu částice, ale také rezonanční podmínku pro excitaci dovoleného elektronového přechodu adsorbované molekuly. V případě zachování geometrické a elektronové struktury chromoforu při jeho navázání na povrch Ag nebo Au NČ je podmínka molekulární rezonance splněna pro stejné λ_{exc} jako v případě rezonančního Ramanova rozptylu neadsorbovaného chromoforu.

2.2. Hydrosoly stříbrných nanočástic

Hydrosoly AgNČ patří v současné době k nejvíce využívaným aktivním povrchům pro SERS spektroskopii, zvláště kvůli dielektrickým vlastnostem stříbra, snadné přípravě a stálosti. Hydrosoly AgNČ mohou být připravovány například laserovou ablací [18], ovšem nejčastěji jsou připravovány chemicky, a to redukcí dusičnanu stříbrného vhodným redukčním činidlem [2,4]. Způsob přípravy významně ovlivňuje chemické vlastnosti hydrosolů jako jsou například povrchový potenciál, koncentrace nebo oxidační stav adsorpčních míst na povrchu AgNČ. Adsorpční místa na povrchu AgNČ specificky ovlivňují způsob adsorpce molekul na jejich povrch [15,16].

Největší SERS zesílení je poskytováno hydrosoly, které obsahují agregované částice [5,19 – 21]. Agregace může být vyvolána samotným přidáním testovacího adsorbátu nebo může být vyvolána přidávkem preagregačního činidla, kterým mohou být např. ionty Cl^- [15,22,23]. Pokud dojde v hydrosolu k agregaci AgNČ, dojde také ke změně v plasmonové rezonanci, což je nejvíce vidět ve změnách průběhu extinkčního spektra povrchových plasmonů AgNČ v hydrosolu. Důsledky agregace lze demonstrovat pomocí modelu lineárního agregátu, ve kterém jsou částice aproximovány jako identické kulové částice [24]. Při vzájemné interakci kulových částic dochází mezi

jednolivými AgNČ v agregátu vlivem plasmonových interakcí (dipól-dipólové interakce) k rozštěpení původního pásu plasmonové extinkce. Tento pás je rozštěpen na pásy dva, kdy maximum prvního pásu leží velice blízko maxima pásu původního, ovšem maximum druhého pásu je výrazně posunuto k vyšším vlnovým délkám, tedy dochází k červenému posunu. K největšímu zesílení záření dochází v souborech interagujících AgNČ s výraznou prostorovou lokalizací optických excitací, jako jsou např. dimery AgNČ či fraktální agregáty AgNČ [8,9,25,26]. Místa, kde dochází k největšímu zesílení EM mechanismem, se nazývají „hot spots“ – silná optická pole soustředěná do nanometrových rozměrů. V závislosti na morfologii AgNČ a použité excitační vlnové délce dochází k zesílení až faktorem 10^{11} [8,9].

Mezi nejčastěji využívané hydrosoly AgNČ patří BH hydrosol AgNČ (hydrosol AgNČ připravený redukcí dusičnanu stříbrného tetrahydridoboritanem sodným) [19,27 – 29], jehož příprava je popsána v kapitole 4.2.1. a citrátový hydrosol AgNČ, který je připravován redukcí dusičnanu stříbrného citronanem sodným [30]. Obdobné vlastnosti jako citrátový hydrosol AgNČ má zatím méně využívaný HA hydrosol AgNČ (hydrosol AgNČ připravený redukcí dusičnanu stříbrného chloridem hydroxylamonným) [14,29], jehož příprava je popsána v kapitole 4.2.2.. BH hydrosol AgNČ je poměrně stálý a v průběhu doby života se z hydrosolu nevyklučují agregáty AgNČ. Podle způsobu přípravy se průměrná velikost AgNČ v BH hydrosolu pohybuje v rozmezí 9 – 13 nm. [29,31]. Citrátový hydrosol AgNČ je stálý, ovšem v průběhu zrání mohou z hydrosolu sedimentovat agregáty AgNČ. Průměrná velikost AgNČ v tomto hydrosolu je cca 39 nm [29]. Jeho nevýhodou je, že AgNČ jsou polydisperzní a často se také vyskytují nesférické, tyčkovité AgNČ. HA hydrosol AgNČ je rovněž stálý jako citrátový hydrosol AgNČ a rovněž z něj v průběhu zrání mohou sedimentovat agregáty AgNČ. Na rozdíl od citrátového hydrosolu AgNČ ovšem obsahuje poměrně monodisperzní AgNČ o průměrné velikosti 30 nm [29].

Pro BH hydrosol AgNČ bylo prokázáno, že modifikace AgNČ chloridy v kyselém prostředí a následného přidavku adsorbátu vede k přerůstání částic za tvorby kompaktních agregátů a současně ke vzniku Ag(0) adsorpčních míst na površích AgNČ [15]. Přítomnost „hot spots“ v kompaktních agregátech AgNČ byla teoreticky předpovězena v práci [8] a experimentálně prokázána v práci [32].

Dodatečná modifikace HA hydrosolu AgNČ chloridy dosud nebyla studována.

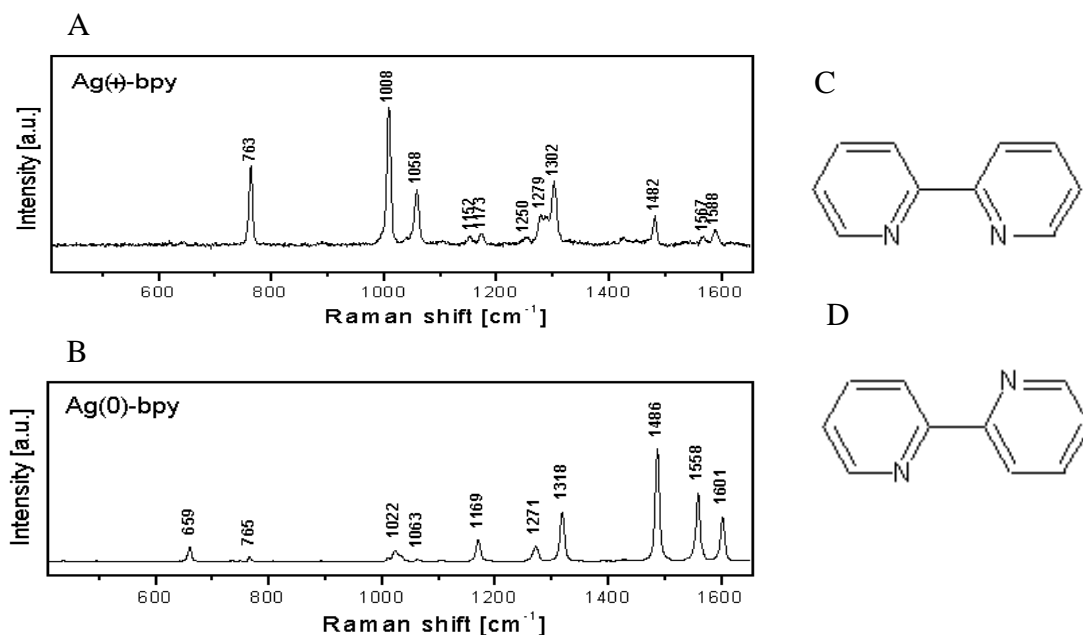
2.3. Testovací adsorbáty

2.3.1. 2,2'-bipyridyl

Jako první testovací adsorbát byl zvolen 2,2'-bipyridyl, jelikož patří mezi dobře prostudované testovací adsorbáty v SERS spektroskopii [15,23]. V BH hydrosolích AgNČ byly identifikovány dvě povrchové species a to Ag^+ -bpy a $\text{Ag}(0)$ -bpy, které indikují přítomnost Ag^0 nebo Ag^+ adsorpčních míst [15]. Obě povrchové species vznikají bidentátní koordinací molekuly bpy v cis konformaci (obr. 2). Jednotlivé povrchové species se liší polohou pásů a relativními intenzitami jednotlivých spektrálních pásů, které charakterizují příslušnou spektrální formu dané povrchové species. Ag^+ -bpy přísluší pásy při 763, 1008, 1058, 1302, 1482, 1567 a 1588 cm^{-1} (obr. 2A). $\text{Ag}(0)$ -bpy přísluší pásy při 659, 765, 1022, 1169, 1271, 1318, 1486, 1558 a 1601 cm^{-1} (obr. 2B), [15]. Bylo zjištěno, že k SERSu povrchové species Ag^+ -bpy přispívá pouze EM mechanismus, zatímco v případě $\text{Ag}(0)$ -bpy může přispívat i mechanismus chemický. Podstatou působení chemického mechanismu v případě povrchového komplexu $\text{Ag}(0)$ -bpy je koinkidence energie excitujícího záření s energií elektronového přechodu fotoindukovaného přenosu náboje (charge transfer – CT) z $\text{Ag}(0)$ do π^* orbitalu bpy. Maximum pásu tohoto CT elektronového přechodu se nachází přibližně u 540 nm [23]. Při použití excitační vlnové délky 532 nm v této práci lze tedy předpokládat příspěvek chemického mechanismu k EM mechanismu v SERSu $\text{Ag}(0)$ -bpy.

Přítomnost povrchového komplexu $\text{Ag}(0)$ -bpy byla prokázána nejprve na površích AgNČ modifikovaných adsorpcí chloridů při relativní pokryvové koncentraci Cl^- rovné či vyšší než 0,6. Dosažení této povrchové koncentrace adsorbovaných chloridů lze v BH hydrosolu AgNČ připravovaného dle [27,28] dosáhnout přidávkem HCl, tak aby její koncentrace v systému činila $5 \cdot 10^{-4}$ M, nebo přidávkem NaCl, aby jeho koncentrace v systému byla $5 \cdot 10^{-3}$ M [15]. Současně s detekcí povrchového komplexu $\text{Ag}(0)$ -bpy byly za těchto podmínek pozorovány morfologické změny agregátů AgNČ, konkrétně konverze fraktálních agregátů na kompaktní agregáty AgNČ. V uvedených systémech jsou detegovány převážně spektrální pásy $\text{Ag}(0)$ -bpy, avšak faktorová analýza prokázala rovněž přítomnost původní species Ag^+ -bpy [15].

Povrchový komplex $\text{Ag}(0)$ -bpy byl detegován rovněž v silně redukčním prostředí za podmínek redukce AgNO_3 pomocí NaBH_4 v přítomnosti bpy [15]. Bpy jako SERS spektrální sondy bylo použito pro detekci přítomnosti $\text{Ag}(0)$ nebo Ag^+ adsorpčních míst na površích AgNČ v průběhu jejich přípravy metodou laserové ablace [11].

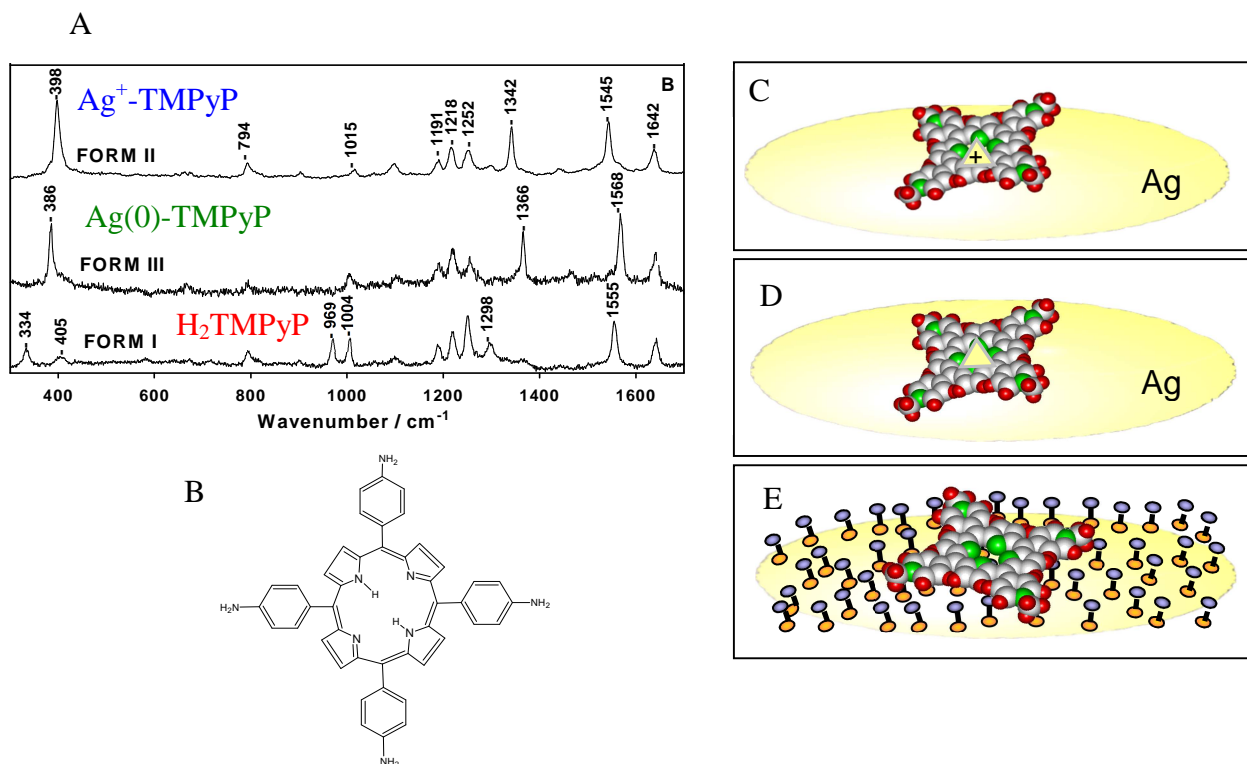


Obr 2: SERS spektra povrchových specií 2,2-bipyridylu (A) Ag(+)-bpy (B) Ag(0)-bpy. Strukturní vzorce 2,2-bipyridylu (C) cis konformace bpy při koordinaci (D) trans konformace volného bpy v roztoku

2.3.1. 5,10,15,20-tetrakis-(1-methyl-4-pyridiumyl)-21H,23H-porfin

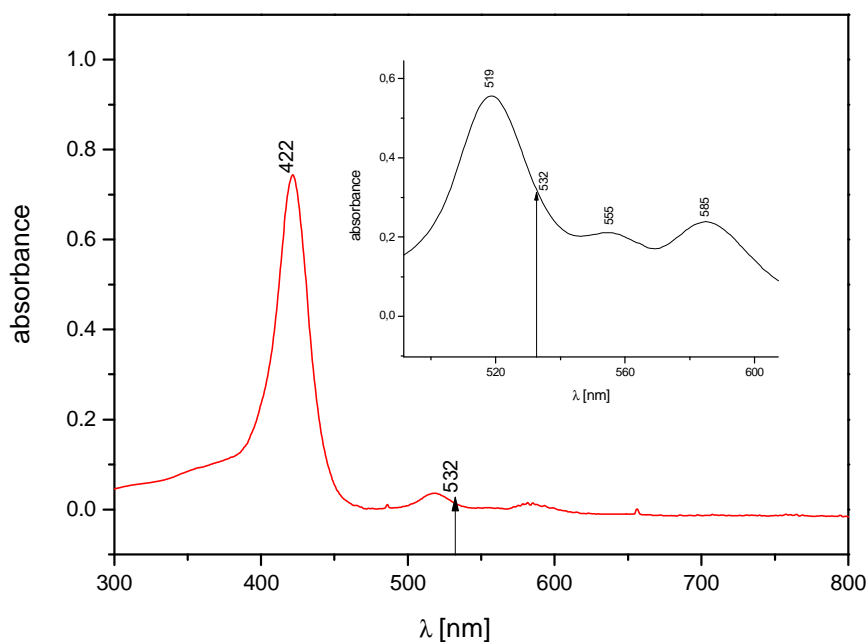
Druhým testovacím adsorbátem byl tetrakationtový porfyrin 5,10,15,20-tetrakis-(1-methyl-4-pyridiumyl)porfin (H_2TMPyP), (obr. 3B). Tento adsorbát se na površích AgNČ vyskytuje nejčastěji ve formě povrchových specií označených jako forma I, II a III [16], (obr. 3A). Označením forma I je nazývána nativní forma porfyrinu volné báze H_2TMPyP , forma II představuje povrchovou species $Ag^+-TMPyP$ a forma III odpovídá povrchové species $Ag(0)-TMPyP$. Povrchová species $Ag^+-TMPyP$ charakterizuje přítomnost Ag^+ . Jsou pro ni charakteristické zejména pásy při 398, 1342 a 1545 cm^{-1} [16], (obr. 3A). U této formy je ion Ag^+ včleněn do centra porfyrinového makrocyklu v důsledku přímé interakce porfyrinového makrocyklu s Ag^+ adsorpčními místy na povrchu AgNČ (obr. 3C). Povrchový komplex $Ag(0)-TMPyP$ indikuje přítomnost Ag^0 adsorpčních míst a je charakterizován pásy při 386, 1366 a 1568 cm^{-1} [16], (obr. 3A,D). K prvotní interakci porfyrinu s povrchem AgNČ dochází prostřednictvím elektrostatických interakcí mezi kladně nabitými bočními skupinami kationtového porfyrinu a záporně nabitou vnější částí elektrické dvojvrstvy obklopující Ag nanočástice v nabitém Ag hydrosolu [16]. Porfyrinu H_2TMPyP příslušejí pásy při 334, 969, 1004, 1298 a 1555 cm^{-1} [16], (obr. 3A). Vyskytuje se v aktivních systémech,

kde není porfyrinový makrocyklus v přímé interakci s povrchem AgNČ (obr. 3E). Pro všechny povrchové komplexy porfyrinu je společná přítomnost pásů při 1191, 1218 a 1252 cm^{-1} [16], (obr. 3A), tyto pásy zároveň charakterizují výskyt porfyrinu v aktivních systémech a jednotlivé formy se liší pouze relativní intenzitou těchto pásů. H_2TMPyP jako testovacího adsorbátu bylo využito při studii mechanismů laserové ablace [11], při testování systémů AgNČ imobilizovaných na pevných površích [12] a agregátů vzniklých ve vyschlé kapce („dried drop“) HA hydrosolů AgNČ [13].



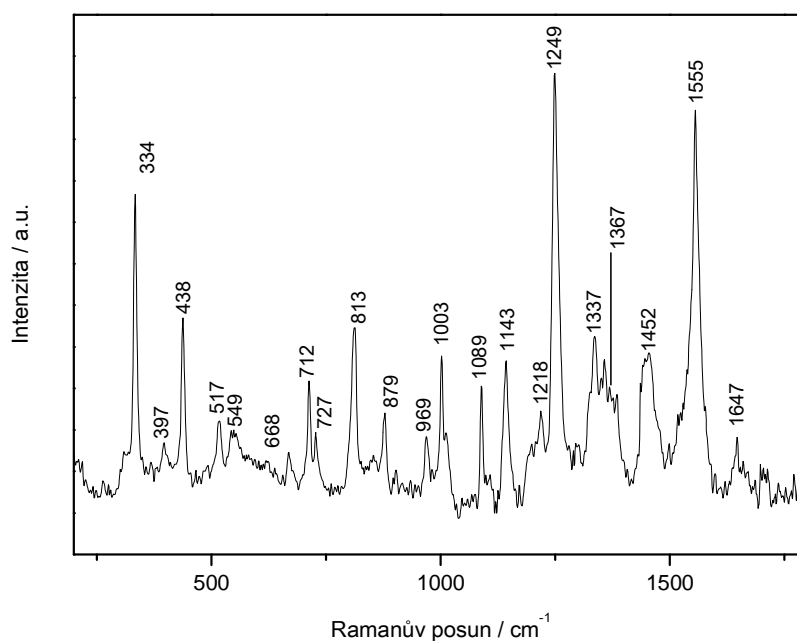
Obr 3: (A) SERRS spektra jednotlivých spektrálních specií porfyrinu H_2TMPyP . (B) strukturní vzorec 5,10,15,20-tetrakis-(1-methyl-4-pyridiniumyl)-21H,23H-porfinu. Schématická znázornění adsorpce porfyrinu v blízkosti povrchu nanočástice (C) $\text{Ag}^+\text{-TMPyP}$, (D) Ag(0)-TMPyP , (E) volná báze H_2TMPyP

Na obr. 4 je znázorněno UV/vis spektrum porfyrinu H_2TMPyP o koncentraci $1 \cdot 10^{-4}$ M a detail spektrální oblasti Q – pásů při $c(\text{H}_2\text{TMPyP}) = 1 \cdot 10^{-5}$ M. Jelikož je porfyrin chromoforová molekula, bylo zkoumáno, zda se při měření SERS spekter s použitím $\lambda_{\text{exc}} = 532$ nm v této práci uplatňuje nejen EM mechanismus, ale také mechanismus molekulární rezonance. Při promítnutí excitační vlnové délky do Q pásů porfyrinu H_2TMPyP je vidět, že je uplatňován i mechanismus molekulární rezonance, a jde tedy o měření SERS spekter.



Obr 4: UV/VIS spektrum porfyriu H_2TMPyP — $c = 10^{-4}$ M. V detailu znázorněné promítnutí excitační vlnové délky do Q pásů porfyriu H_2TMPyP — $c = 10^{-5}$ M.

Jelikož faktorová analýza v práci [16] byla prováděna na základě spekter měřených při $\lambda_{\text{exc}} = 441$ nm, zatímco experimenty v této práci byly prováděny při $\lambda_{\text{exc}} = 532$ nm, bylo změřeno RRS (RRS = resonance Raman scattering) spektrum při této vlnové délce v pevném skupenství, z krystalu porfyriu H_2TMPyP (obr. 5), které bylo využito k analýze povrchových komplexů porfyriu H_2TMPyP v naměřených spektrech.



Obr. 5: RRS spektrum porfyriu H_2TMPyP získané z krystalu. Ve spektru byla provedena korekce základní linie.

3. Cíle práce

1. Porovnání charakteristik HA hydrosolu AgNČ po modifikaci chloridy v kyselém prostředí, jako nového typu využívaného SERS aktivního povrchu, s charakteristikami BH hydrosolu AgNČ po modifikaci chloridy v kyselém prostředí, jako již běžně využívaného SERS – aktivního povrchu. Oba hydrosoly AgNČ budou připraveny chemickou redukcí AgNO₃: redukčním činidlem je v případě HA hydrosolu NH₂OH·HCl, v případě BH hydrosolu NaBH₄. Zvolené srovnávací charakteristiky představují: Spektra plasmonové extinkce (SPE), TEM snímky hydrosolů AgNČ, SERS a SERRS spektra vybraných testovacích adsorbátů (2,2-bipyridyl; 5,10,15,20-tetrakis(1-methyl-4-pyridiumyl)porfin) v systémech hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát a jejich závislost na koncentraci adsorbovaných molekul při $\lambda_{\text{exc}} = 532 \text{ nm}$ a stanovení meze SERS a SERRS spektrální detekce v těchto systémech.
2. Vývoj a testování nové metodiky měření SERS a SERRS spekter vybraných testovacích adsorbátů z jednotlivých agregátů stříbrných nanočástic z tenké vrstvy hydrosolových systémů AgNČ/HCl/adsorbát s využitím Ramanovy mikrospektroskopie a její srovnání s běžně využívanou metodikou makro – spektroskopických měření SERS a SERRS spekter hydrosolových systémů AgNČ/HCl/adsorbát.

4. Experimentální část

4.1. Použité chemikálie a nádobí

4.1.1. Chemikálie

- 5, 10, 15, 20-tetrakis(1-methyl-4-pyridiumyl)-21H,23H-porfin – tetra p-tosylátová sůl – H_2TMPyP /Sigma – Aldrich/
- 2,2' – bipyridyl /Merck/
- tetrahydridoboritan sodný – $NaBH_4$ /Merck/
- dusičnan stříbrný – $AgNO_3$ /Merck/
- chlorid hydroxylamonný (hydroxylamin hydrochlorid) – $NH_2OH \cdot HCl$ /Sigma – Aldrich/
- hydroxid sodný $NaOH$ /Penta, p.a./
- kyselina dusičná – HNO_3 /Lachner, p.a./
- kyselina chlorovodíková – HCl /Lachner, p.a./
- kyselina sírová – H_2SO_4 /Lachner, p.a./
- chromsírová směs /Penta, typ A/
- peroxid vodíku – H_2O_2 /Lachner, p.a./

4.1.2. Chemické nádobí

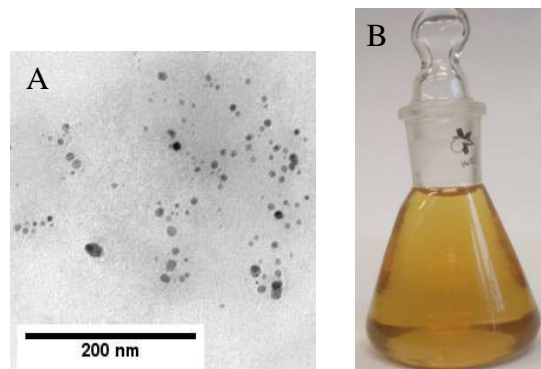
Při přípravě hydrosolů $AgN\check{C}$ i při přípravě aktivních systémů je potřeba dbát na čistotu chemikálií i použitého chemického nádobí. Veškeré laboratorní nádobí používané při přípravě hydrosolů a k přípravě aktivních systémů bylo vyluhováno ve zředěné kyselině dusičné (1:1), kyselině peroxosírové a lučavce královské. V jednotlivých mezikrocích a na konci bylo nádobí opláchnuto dostatečným množstvím deionizované vody. Kyvety a podložní mikroskopická sklíčka byla vyluhována ve zředěné kyselině dusičné a chromsírové směsi. V mezikrocích byly opět kyvety i sklíčka opláchnuty dostatečným množstvím deionizované vody. Nádobí bylo vždy ponecháno k vyluhování minimálně 30 minut.

4.2. Příprava hydrosolů AgNČ a aktivních systémů

4.2.1. Příprava hydrosolu Ag nanočástic redukcí dusičnanu stříbrného tetrahydridoboritanem sodným (BH)

K přípravě BH hydrosolu AgNČ bylo využito postupu vycházejícího z práce [27] a modifikovaného v práci [28] založeného na redukcí AgNO_3 NaBH_4 . K 75,0 ml $1,2 \cdot 10^{-3}$ M roztoku NaBH_4 bylo přikapáno 9,0 ml $2,2 \cdot 10^{-3}$ M roztoku AgNO_3 . Konkrétně 3,5 mg NaBH_4 bylo rozpuštěno v 75,0 ml redestilované vody a následně bylo ochlazené na 2,0 °C. Po vychlazení byla baňka s roztokem položena na magnetickou míchačku, na které začalo probíhat kontinuální promíchávání roztoku. Do roztoku vychlazeného NaBH_4 bylo následně přikapáno pomocí skleněné pipety 9,0 ml roztoku AgNO_3 , připravovaného rozpuštěním 6,7 mg v 18,0 ml redestilované vody. Vzniklý hydrosol AgNČ byl dále míchán po dobu 45 minut. K míchání bylo použito skleněné míchadlo a míchačka byla během míchání nastavena na 350 otáček za minutu.

Jelikož i po ukončení míchání probíhá dále redukce AgNO_3 NaBH_4 , je možné tento hydrosol použít nejdříve za 2 dny, kdy dojde k ustálení složení. Ideální BH hydrosol AgNČ je čirý, světle žlutě zbarvený. Průměrná velikost AgNČ v tomto typu hydrosolu je 9 nm [31]. Optimálně připravený BH hydrosol AgNČ je na obr. 6.



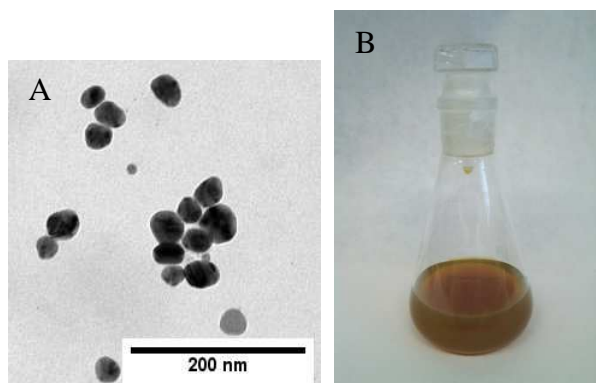
Obr. 6: (A) TEM snímek AgNČ nanesených z BH hydrosolu (B) BH hydrosol AgNČ

4.2.2. Příprava hydrosolu Ag nanočástic redukcí dusičnanu stříbrného chloridem hydroxylamonným (hydroxylamin hydrochloridem, HA)

K přípravě hydrosolu AgNČ bylo využito postupu vycházejícího z práce [14] a modifikovaného v práci [29]. Stříbrný HA hydrosol byl připraven redukcí AgNO_3 $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$. K 90,0 ml $1,6 \cdot 10^{-3}$ M $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ bylo přidáno 0,3 ml 1M roztoku NaOH. Následně bylo přikapáno 10,0 ml $1 \cdot 10^{-2}$ M AgNO_3 . Konkrétně 10,4 mg $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ bylo rozpuštěno v 90,0 ml redestilované vody. K roztoku $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ bylo přidáno 30 μl 1 M vodného roztoku NaOH, který byl připraven rozpuštěním 0,2 g NaOH v 5 ml redestilované vody.

Vodný roztok NaOH je do roztoku $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ přidáván, neboť pro redukci AgNO_3 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ je nutné, aby počáteční pH reakční směsi bylo mírně alkalické. Po úpravě pH byl roztok $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ umístěn na magnetickou míchačku a poté bylo přikapáno 10,0 ml roztoku AgNO_3 , který vznikl rozpuštěním 33,9 mg AgNO_3 ve 20 ml redestilované vody. Roztok byl kontinuálně promícháván po celou dobu přikapávání a po přikapání veškerého objemu AgNO_3 byl vzniklý hydrosol promícháván dalších 45 min. K míchání bylo použito skleněné míchadlo, míchačka byla během míchání nastavena na 350 otáček za minutu.

HA hydrosol AgNČ je možné použít ihned po přípravě. Ideálně připravený HA hydrosol AgNČ je hnědo žlutě zbarvený a opalescentní. Průměrná velikost AgNČ v tomto hydrosolu je 30 nm [29]. Optimálně připravený HA hydrosol je na obr. 7.



Obr. 7: (A) TEM snímek AgNČ nanosených z HA hydrosolu (B) HA hydrosol AgNČ

4.2.3. Příprava aktivních systémů pro měření koncentrační závislosti SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů

Do 5,0 ml váženky byly pomocí automatické pipety odměřeny 2,0 ml hydrosolu AgNČ . Následně bylo přidáno 10,0 μl 1 M HCl a poté bylo přidáno 20,0 μl $1\cdot 10^{-2}$ - $1\cdot 10^{-7}$ M zásobního roztoku bpy nebo 20,0 μl $1\cdot 10^{-4}$ - $1\cdot 10^{-7}$ M zásobního roztoku H_2TMPyP . Vzniklý roztok ve váženke byl promíchán a následně byly odebrány 2,0 ml tohoto aktivního systému a přeneseny do křemenné kyvety. Aktivní systémy byly v práci značeny HA či BH hydrosol $\text{AgNČ}/\text{HCl}/\text{adsorbát}$ (bpy či H_2TMPyP).

4.2.4. Příprava aktivních systémů pro měření SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů z vodnou fází převrstvených sedimentovaných agregátů AgNČ na mikroskopickém podložním sklíčku

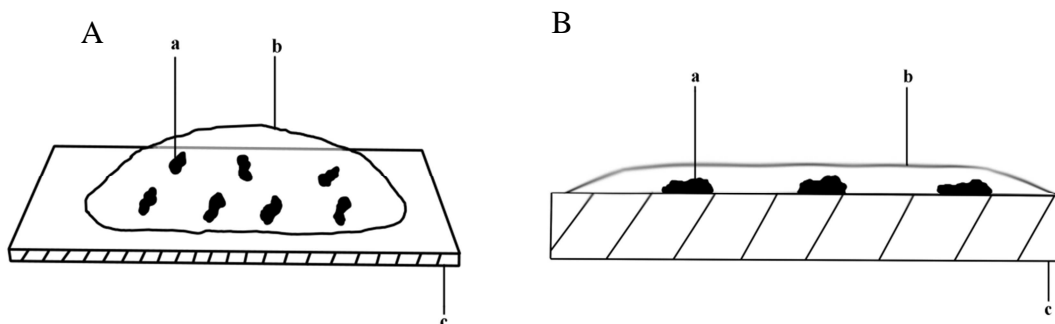
SERS a SERRS spektra byla měřena jak z mikroskopických agregátů spontánně vzniklých v aktivním systému, tak z makroskopických agregátů vytvořených spojením mikroskopických agregátů v aktivním systému. V obou případech je podmínkou

úspěšného měření sedimentace agregátů z tenké vrstvy aktivního systému na mikroskopické sklíčko.

Pod pojmem mikroskopické agregáty rozumíme agregáty vznikající v aktivním systému, které ovšem nejsou pozorovatelné okem, ale pouze pod mikroskopem. Makroskopické agregáty vznikají spojením mikroskopických agregátů a jsou běžně pozorovatelné okem.

4.2.4.1. Příprava aktivních systémů obsahující mikroskopické agregáty pro měření koncentrační závislosti SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů

Do 5 ml váženky byly automatickou pipetou odebrány 2,0 ml HA hydrosolu AgNČ. Do váženky bylo dále přidáno 10,0 μl 1 M HCl. Poté bylo přidáno 20,0 μl $1 \cdot 10^{-2}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ M zásobního roztoku bpy nebo 20,0 μl $1 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ M zásobního roztoku H₂TMPyP, vždy do nové váženky obsahující HA hydrosol AgNČ a HCl. Váženka byla následně uzavřena víčkem a protřepána v ruce. Následně bylo pomocí automatické pipety odebráno 20 μl aktivního systému, který byl v tenké vrstvě nanesen na podložní sklo (obr. 8).

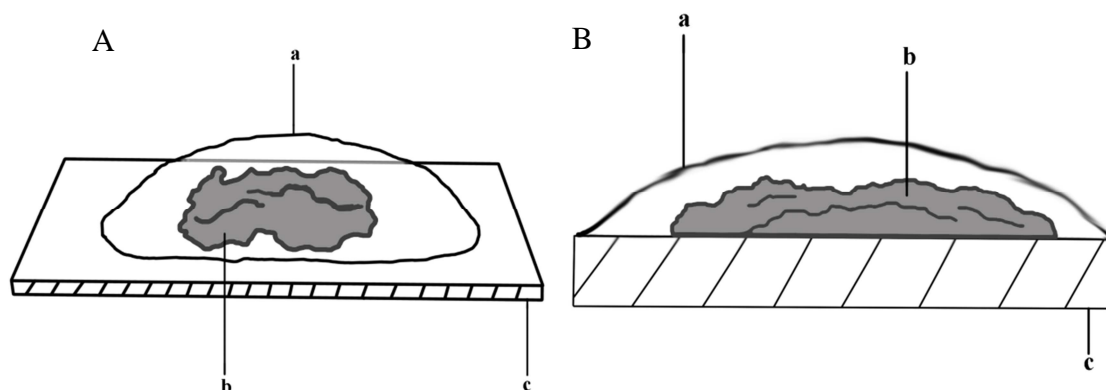


Obr. 8: Schématické znázornění mikroskopických agregátů: a – matečný roztok, b – agregát, c – podložní sklíčko: (A) trojrozměrný pohled na mikroskopický agregát (B) průřez mikroskopickým agregátem

4.2.4.2. Příprava aktivních systémů obsahující makroskopické agregáty pro měření koncentrační závislosti SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů

Do 5 ml váženky byly automatickou pipetou odebrány 2,0 ml HA hydrosolu AgNČ a následně bylo přidáno 10,0 μl 1 M HCl. Poté bylo přidáno 20,0 μl $1 \cdot 10^{-2}$ - $1 \cdot 10^{-7}$ M zásobního roztoku bpy nebo 20 μl $1 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ M zásobního roztoku H₂TMPyP, vždy do nové váženky obsahující HA hydrosol AgNČ a HCl. Váženka byla následně uzavřena víčkem a ručně třepána po dobu 30 – 60 s, dokud se v systému nevytvořily agregáty. Pomocí pipetovací špičky byly tyto agregáty spojeny v jeden a následně byl

tento agregát odebrán s malým množstvím matečného roztoku pomocí automatické pipety a byl přenesen na podložní sklíčko (obr. 9).



Obr. 9: Schématické znázornění makroskopických agregátů: a – matečný roztok, b – agregát, c – podložní sklíčko: (A) trojrozměrný pohled na makroskopický agregát (B) průřez mikroskopickým agregátem

4.2.4.3. Příprava vzorku pro měření rezonančních Ramanových spekter porfyrinu H_2TMPyP

RRS spektra porfyrinu H_2TMPyP byla měřena z pevných vzorků. Ty byly připravovány rozetřením několika krystalů pevného porfyrinu $H_2TMPyP(4^+)$ tosylátové soli na podložním skle.

4.3. Příprava sítěk a vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii (TEM)

Pro měření byly použity měděné sítky Electron Microscopy Sciences (typ CF400-Cu), pokryté uhlíkovou folií. Sítka určená pro transmisní elektronovou mikroskopii byla předem uchycena do pinzety a položena na filtrační papír. Příprava aktivních systémů probíhala způsobem, který je popsán v kapitole 4.2.3. Po promíchání obsahu váženky bylo pomocí automatické pipety odebráno 10 μ l aktivního systému, který byl nakápnut na síťku a byl zde ponechán po dobu 10 minut za účelem depozice agregátů na síťku. Poté byla kapka odsáta pomocí filtračního papíru. Sítky byly uloženy do trezorku a byly připraveny k měření.

4.4. Stanovení povrchového pokrytí AgNČ molekulami adsorbátu

Použité výpočty byly provedeny dle postupu popsaného v práci [33]. Plocha vázaného bpy byla získána rovněž z práce [33] a byla stanovena jako 40 Å^2 . V případě molekuly H_2TMPyP bylo předpokládáno, že plocha molekuly je přibližně stejná jako plocha molekuly metaloporfyrinu Cu(II)TMPyP . Plocha Cu(II)TMPyP je známa z krystalografické databáze a byl stanoven jako 330 Å^2 . Vypočtené údaje jsou uvedeny v tab. 1.

Tab. 1: Vypočtené údaje potřebné ke stanovení povrchového pokrytí AgNČ

		HA hydrosol AgNČ	BH hydrosol AgNČ
Průměr 1 Ag částice / Å		300	90
Počet Ag částic ve 2 ml hydrosolu		$1,5 \cdot 10^{12}$	$1,3 \cdot 10^{13}$
Povrch Ag částic ve 2 ml hydrosolu / Å ²		$4,1 \cdot 10^{17}$	$3,2 \cdot 10^{17}$
Počet molekul tvořící monovrstevný povrch ve 2 ml hydrosolu	bpy	$1,0 \cdot 10^{16}$	$8,1 \cdot 10^{15}$
	H_2TMPyP	$1,3 \cdot 10^{15}$	$9,8 \cdot 10^{14}$
Koncentrace molekul tvořící monovrstevný povrch / M	bpy	$8,5 \cdot 10^{-6}$	$6,7 \cdot 10^{-6}$
	H_2TMPyP	$1,0 \cdot 10^{-6}$	$8,2 \cdot 10^{-7}$

4.5. Použité instrumentální metody

4.5.1. Rezonanční Ramanova spektroskopie a spektroskopie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu

K měření RRS, SERS a SERRS byl využit DXR Ramanův mikrospektrometr (Thermo Scientific). K měření SERS a SERRS spekter z mikroskopických či makroskopických agregátů a k měření RRS z krystalu byly využity objektivy s 10ti a 50ti násobným zvětšením. Kapalně vzorky byly měřeny v křemenné kyvetě umístěné do makro-adaptéru. K excitaci byl použit diodou buzený Nd-YAG laser o vlnové délce 532 nm s rozsahem výkonu 0,5 – 24 mW. K měření bylo využíváno maximálního výkonu.

4.5.2. Absorpční spektroskopie v ultrafialové a viditelné oblasti

K měření elektronových absorpčních spekter adsorbátů, spekter plasmonové extinkce (UV/vis spektra) Ag hydrosolů a SERS aktivních systémů v ultrafialové a ve viditelné oblasti byl použit spektrometr Specord s600 (Analytik Jena). Použity byly kyvety o optické dráze 10 a 2 mm.

4.5.3. Transmisní elektronová mikroskopie

TEM snímky vzorků nanesených na sítkách pro TEM byly pořízeny s pomocí mikroskopu JEOL - JEM 200 CX. Zvětšení se pohybovala v rozmezí 50 000 – 500 000.

4.6 Zpracování a vyhodnocování spekter a určování mezí SERS a SERRS spektrální detekce

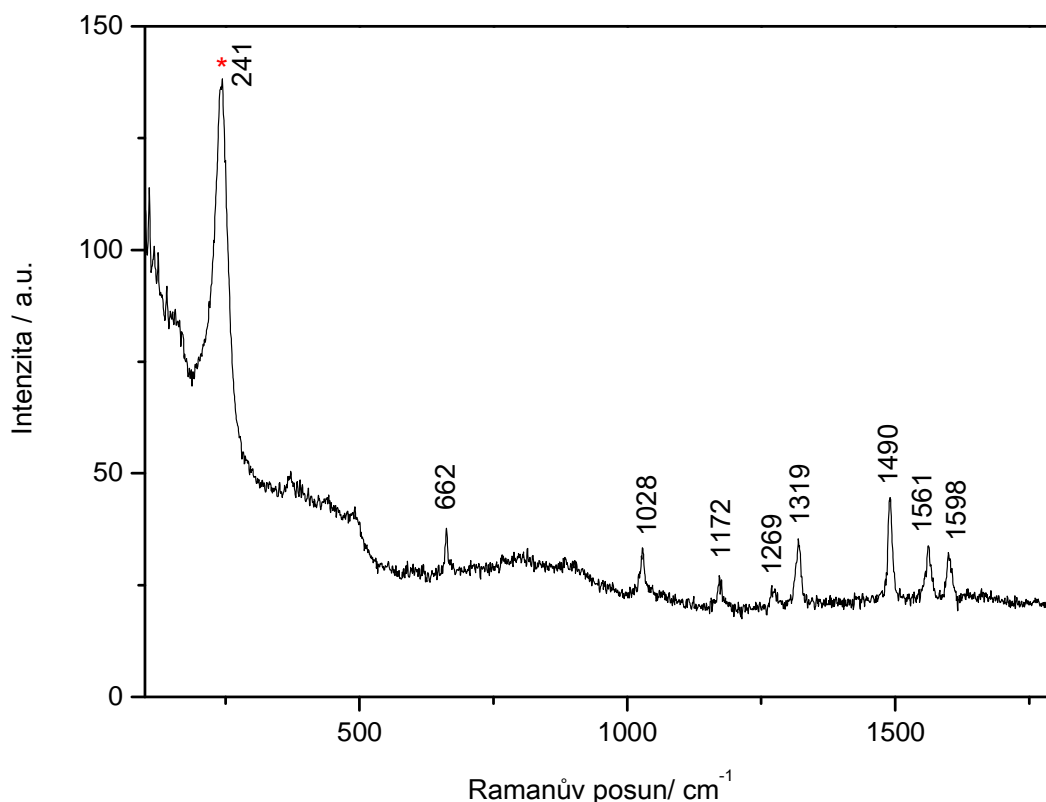
Ke zpracování UV/vis spekter byl využit program OriginPro 7. Ke zpracování SERS a SERRS spekter bylo využito programů OriginPro 7 a OMNIC 8. Ke zpracování nebyl zvolen jediný program, jelikož každý z programů se vyznačuje jinými výhodami. V závislosti na konkrétním typu souboru vyhodnocovaných spekter byl poté volen vhodnější zpracovatelský program.

Koncentrační hodnota meze SERS nebo SERRS spektrální detekce byla určována z měření koncentrační závislosti SERS nebo SERRS spekter jako nejnižší koncentrace adsorbátu v systému, pro níž byly v SERS nebo SERRS spektru pozorovány 2 – 3 charakteristické pásy umožňující identifikaci spektrální formy adsorbátu přítomné na površích AgNČ.

5. Výsledky a diskuze

5.1. Presentace a vyhodnocování SERS spekter testovacích adsorbátů

SERS spektra testovacích adsorbátů bpy a H_2TMPyP byla měřena ve spektrální oblasti $200 - 1800 \text{ cm}^{-1}$. Pro optimalizaci určení mezí SERS spektrální detekce testovacích adsorbátů, byla všechna spektra vyhodnocována a reprezentována ve spektrální oblasti $300 - 1800 \text{ cm}^{-1}$, tedy bez pásu 241 cm^{-1} příslušející vibraci Ag-Cl [34], jehož signál byl při nízkých koncentracích testovacího adsorbátu výrazně intenzivnější než pásy studovaného adsorbátu (obr. 10). Odstranění pásu 241 cm^{-1} nemá na analýzu vliv, jelikož Ag-Cl není studovaný adsorbát ani jeho případný produkt a je výsledkem modifikace povrchu AgNČ adsorbovanými Cl^- anionty v důsledku přídavku HCl.



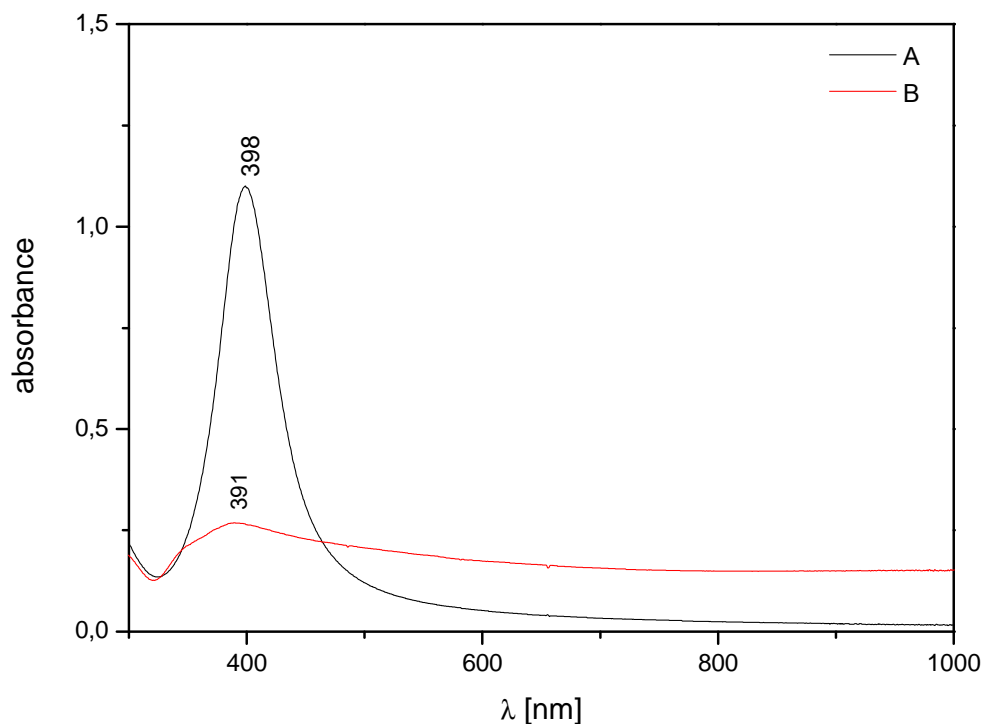
Obr. 10: SERS spektrum systému HA hydrosolu AgNČ/HCl/bpy o koncentraci bpy $c = 10^{-9} \text{ M}$. Pás příslušející vibraci Ag-Cl je označen hvězdičkou.

5.2. Charakterizace systémů HA hydroso AgNČ/HCl/adsorbát a BH hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát: UV/vis spektra, TEM snímky, SERS a SERRS spektra testovacích adsorbátů

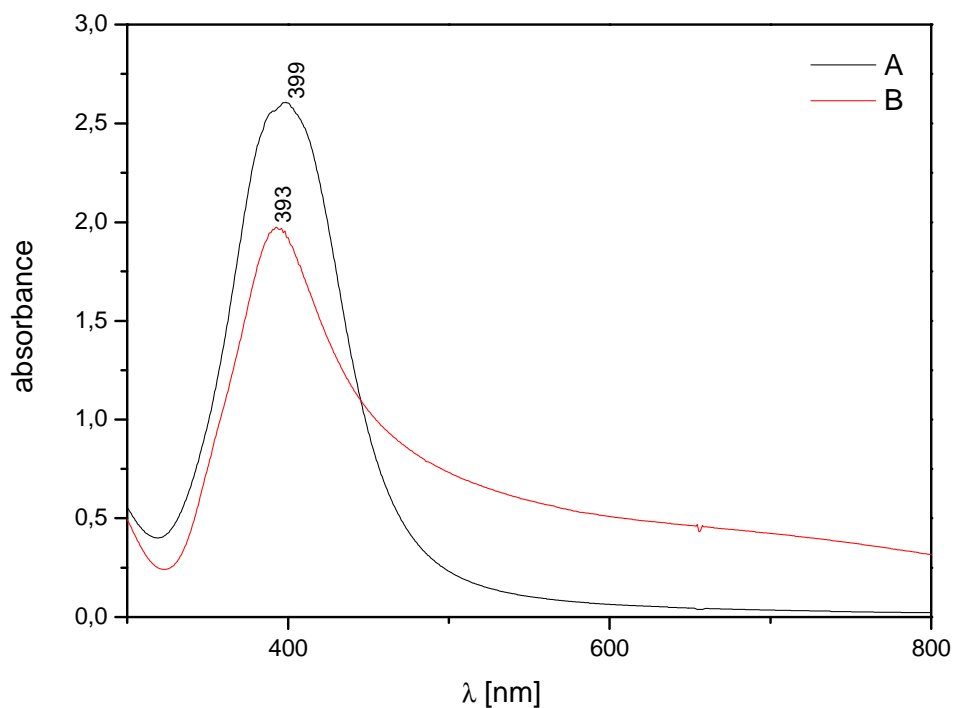
Jako optimální způsob porovnání SERS aktivity HA a BH hydrosolů AgNČ byly proměřeny koncentrační závislosti SERS spekter testovacích adsorbátů – bpy, H₂TMPyP a byly určeny jejich meze SERS spektrální detekce. Pro aktivní systémy obsahující molekuly bpy jako testovací adsorbát byla zvolena počáteční koncentrace tohoto adsorbátu $1 \cdot 10^{-4}$ M. Počáteční koncentrace porfyrinu H₂TMPyP byla $1 \cdot 10^{-6}$ M.

Kromě SERS spekter byla proměřována i UV/vis spektra (obr. 11 – 16) a také byly pořízeny TEM snímky aktivních systémů (obr. 17 – 20). UV/vis spektra představují ve většině případů SPE spektra souboru AgNČ, avšak v případě aktivního systému hydrosolu AgNČ/HCl/H₂TMPyP při koncentraci $1 \cdot 10^{-6}$ M je ve spektru patrný i Soretův elektronový absorpční pás porfyrinu (obr. 14). Z tohoto důvodu jsou změřená spektra označována podle spektrální oblasti jako UV/vis. UV/vis spektra na obr. 11 naznačují, že přidání HCl do hydrosolů způsobuje snížení plasmonové extinkce v oblasti hlavního pásu s maximem při 393 nm, avšak nárůst extinkce v oblasti 450 – 800 nm. Na obr. 13 je znázorněno, jak se mění spektra plasmonové extinkce aktivních systémů BH hydrosol AgNČ/HCl/ bpy při různých koncentracích bpy. UV/vis spektra byla proměřována v koncentračním rozmezí tak, aby odpovídala naměřeným SERS spektrům, čili v rozmezí $1 \cdot 10^{-4}$ M – $1 \cdot 10^{-8}$ M koncentrace bpy v systému. Je zřejmé, že přídavek adsorbátu bpy dále prohlubuje změny SPE způsobené přídavkem HCl. Obdobný trend se vyskytuje i u UV/vis spekter aktivních systémů BH hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP, jak je znázorněno na obr. 14. UV/vis spektra byla proměřena pro $1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ M koncentrace H₂TMPyP v systému. TEM snímky BH hydrosolu a systémů BH hydrosol AgNČ/HCl/bpy (obr. 17) a BH hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP (obr. 18) ukazují, že změny v UV/vis spektrech jsou způsobeny tvorbou kompaktních agregátů AgNČ. Obdobnou, avšak podstatně výraznější změnu v UV/vis spektru provázenou zřejmě i sedimentací agregátů ze systému po přídavku HCl vykazuje i HA hydrosol AgNČ (obr. 12). Na obr. 15 jsou znázorněna UV/vis spektra aktivního systému HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy o různých koncentracích bpy. UV/vis spektra aktivních systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP jsou znázorněna na obr. 16. TEM snímky HA hydrosolu AgNČ a systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy (obr. 19) a HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP (obr. 20) ve srovnání s analogickými systémy s BH hydrosolem

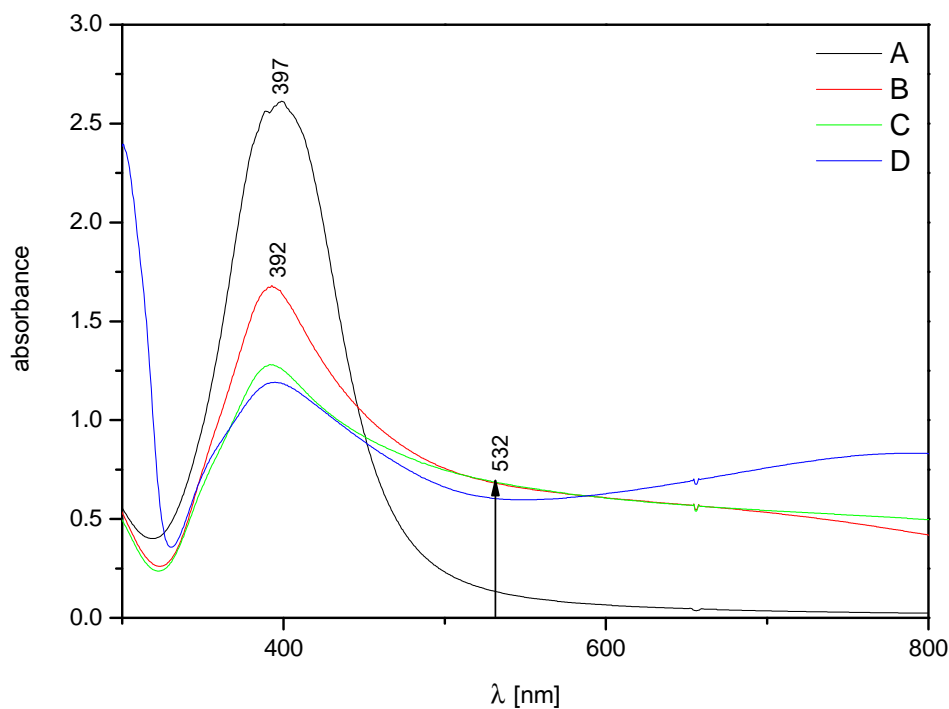
AgNČ ukazují na větší četnost výskytu velkých částic (> 80 nm) v kompaktních agregátech AgNČ v systémech s HA hydrosolem než v systémech s BH hydrosolem.



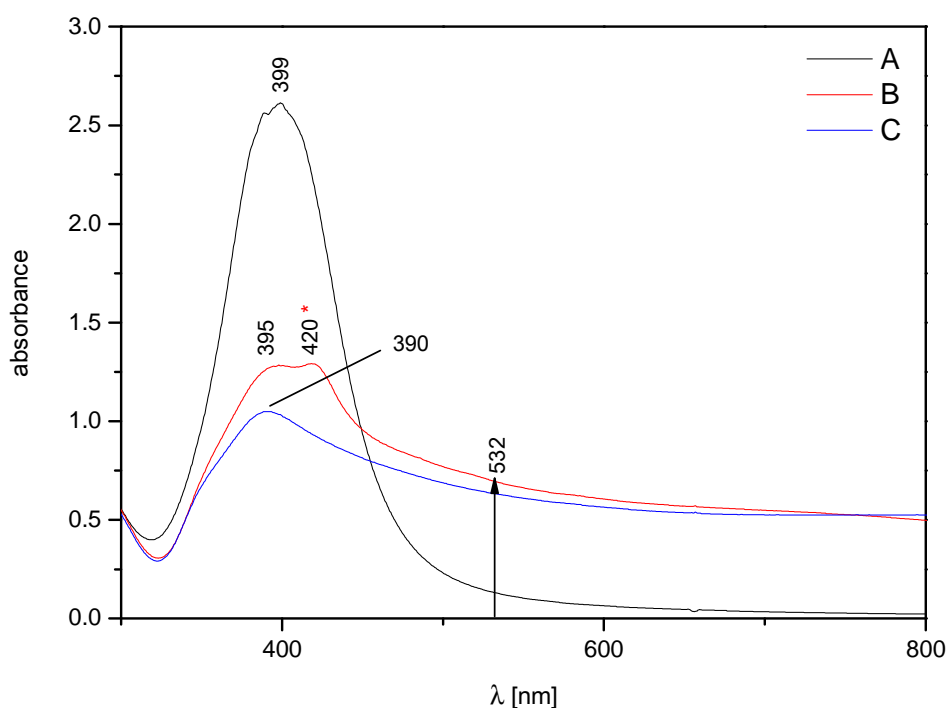
Obr. 11: UV/VIS spektra systémů (A) BH hydrosol (B) BH hydrosol/HCl. Měřena v kyvetě o optické dráze $d = 10$ mm.



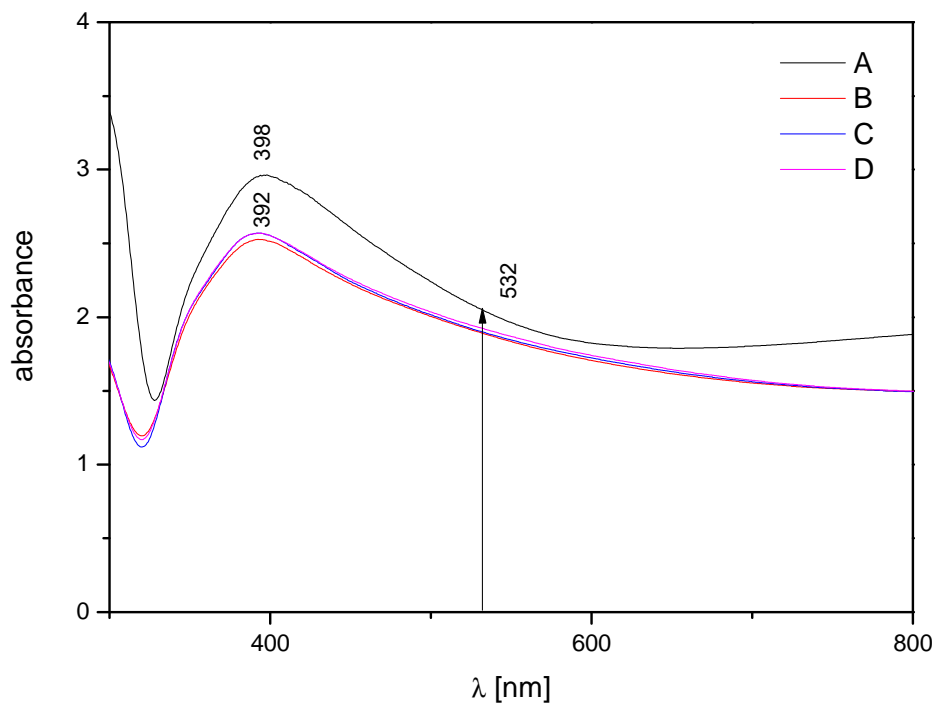
Obr. 12: UV/VIS spektra systémů (A) HA hydrosol (B) HA hydrosol/HCl. Měřena v kyvetě o optické dráze $d = 2$ mm.



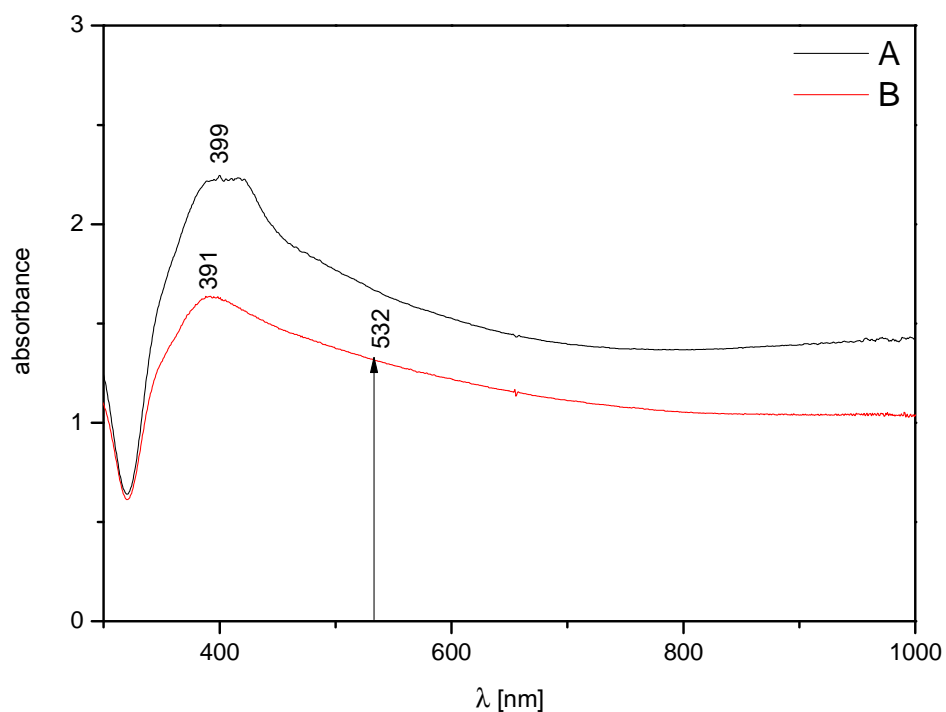
Obr. 13: UV/VIS spektra BH hydrosolu (A) a systémů BH hydrosol AgNČ/HCl/bpy (B) $1 \cdot 10^{-6}$ M (C) $1 \cdot 10^{-7}$ M (D) $1 \cdot 10^{-8}$ M. Měřena v kyvetě o optické dráze $d = 10$ mm.



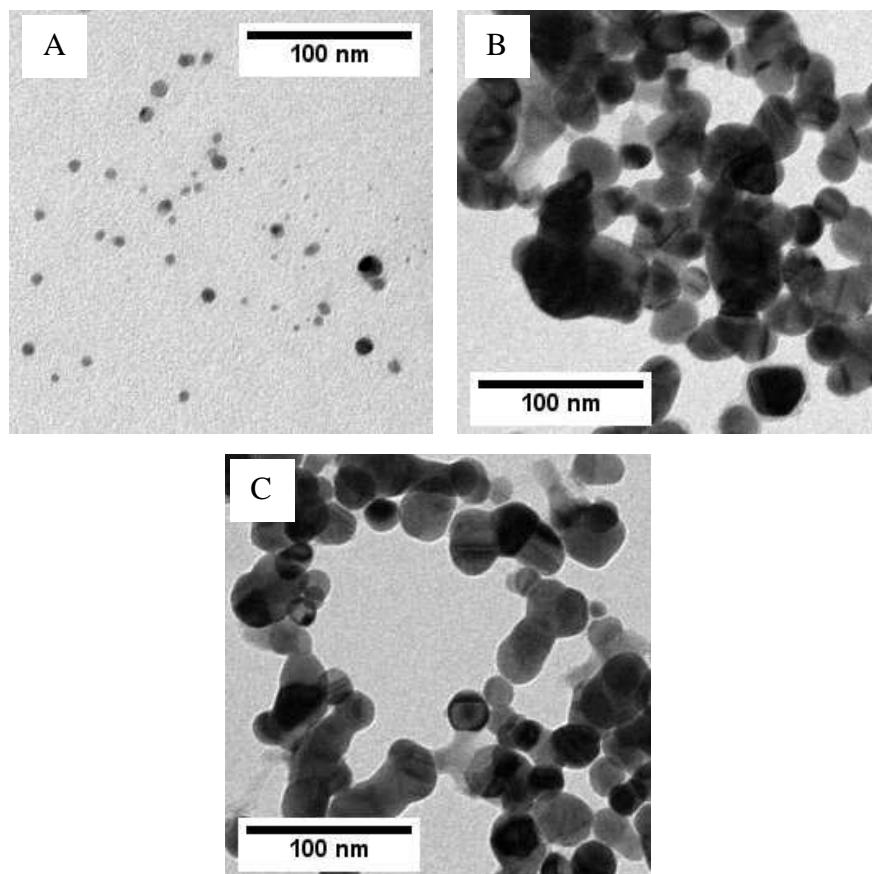
Obr. 14: UV/VIS spektra BH hydrosolu (A) a systémů BH hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP (B) $1 \cdot 10^{-6}$ M (C) $1 \cdot 10^{-7}$ M. Měřena v kyvetě o optické dráze $d = 10$ mm. Soretův pás porfyrinu je označen hvězdičkou.



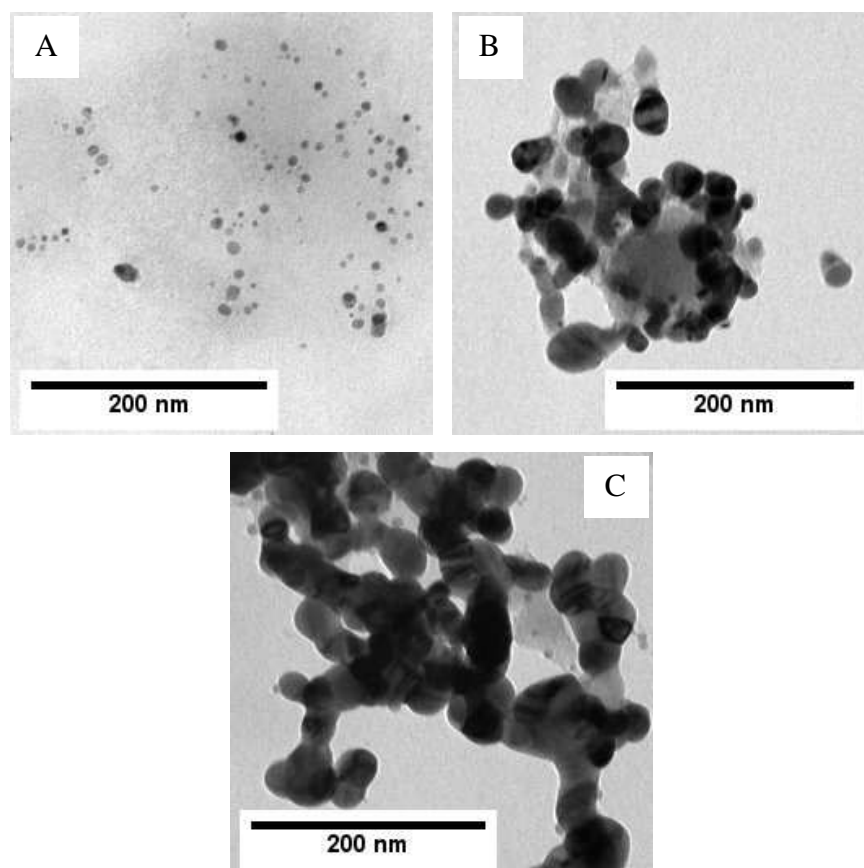
Obr. 15: UV/VIS spektra systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy (A) $1 \cdot 10^{-4}$ M (B) $1 \cdot 10^{-6}$ M (C) $1 \cdot 10^{-7}$ M (D) $1 \cdot 10^{-8}$ M. Měřena v kyvetě o optické dráze $d = 10$ mm.



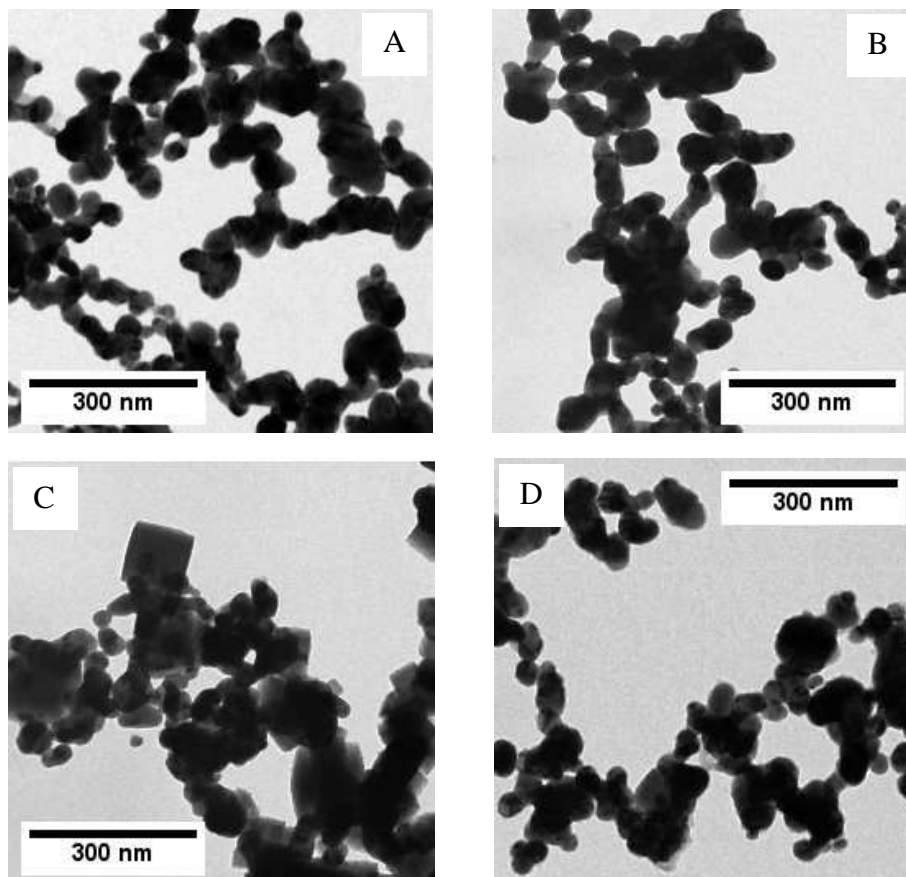
Obr. 16: UV/VIS spektra systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP (A) $1 \cdot 10^{-6}$ M (B) $1 \cdot 10^{-7}$ M. Měřena v kyvetě o optické dráze $d = 10$ mm.



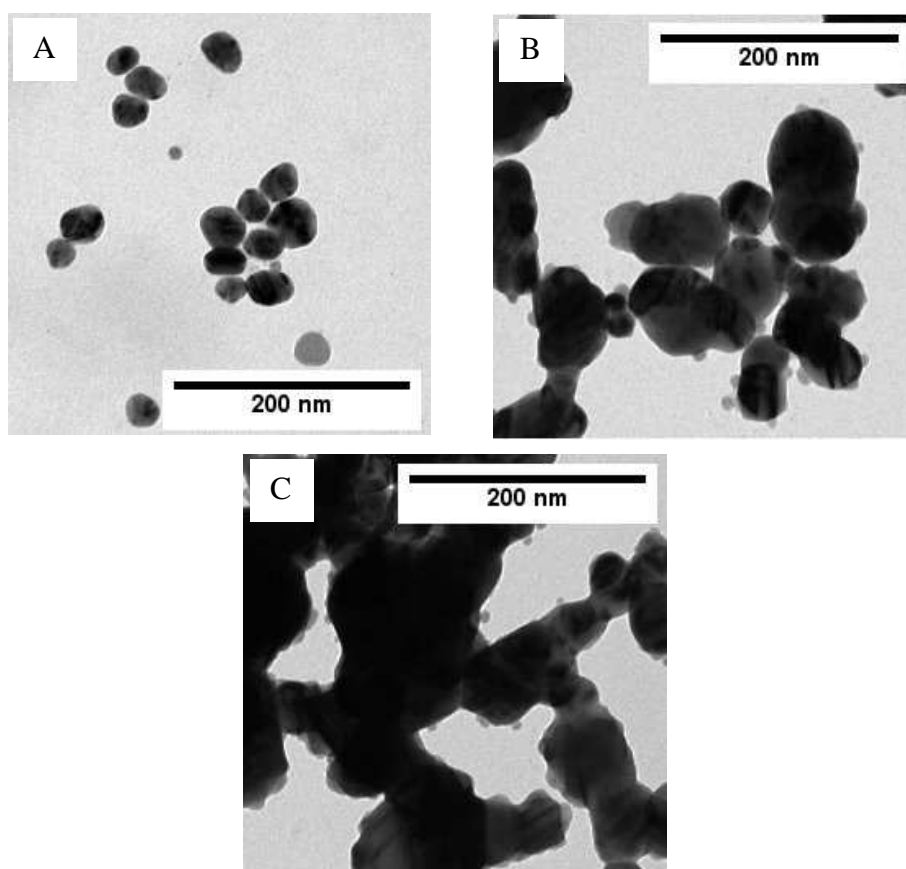
Obr. 17: TEM snímky BH hydrosolu (A) a aktivních systémů BH hydrosol AgNC/HCl/bpy jako funkce koncentrace bpy. Obsah bpy v systému: (B) $1 \cdot 10^{-4}$ M (C) $1 \cdot 10^{-8}$ M



Obr. 18: TEM snímky BH hydrosolu (A) a aktivních systémů BH hydrosol AgNC/HCl/H₂TMPyP jako funkce koncentrace H₂TMPyP. Obsah H₂TMPyP v systému: (B) $1 \cdot 10^{-6}$ M (C) $1 \cdot 10^{-7}$ M



Obr. 19: TEM snímky aktivních systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy jako funkce koncentrace bpy. Obsah bpy v systému: (A) $1 \cdot 10^{-4}$ M (B) $1 \cdot 10^{-6}$ M (C) $1 \cdot 10^{-7}$ M (D) $1 \cdot 10^{-8}$ M



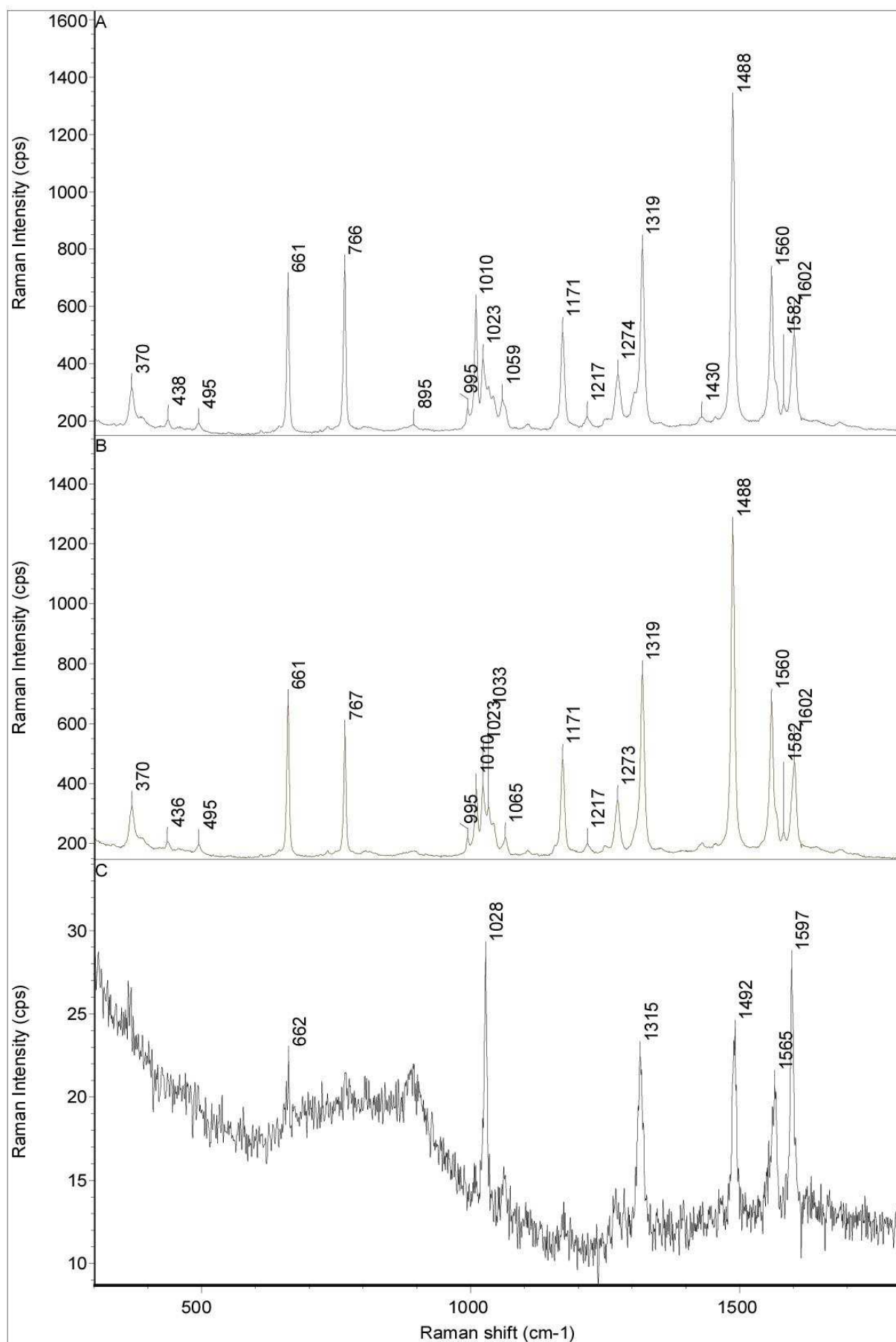
Obr. 20: TEM snímky HA hydrosolu (A) a aktivních systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP jako funkce koncentrace H₂TMPyP. Obsah H₂TMPyP v systému: (B) $1 \cdot 10^{-6}$ M (C) $1 \cdot 10^{-7}$ M

5.2.1. SERS spektra systémů BH hydrosol AgNČ/HCl/bpy a HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy jako funkce koncentrace bpy v systému a určení meze SERS spektrální detekce bpy

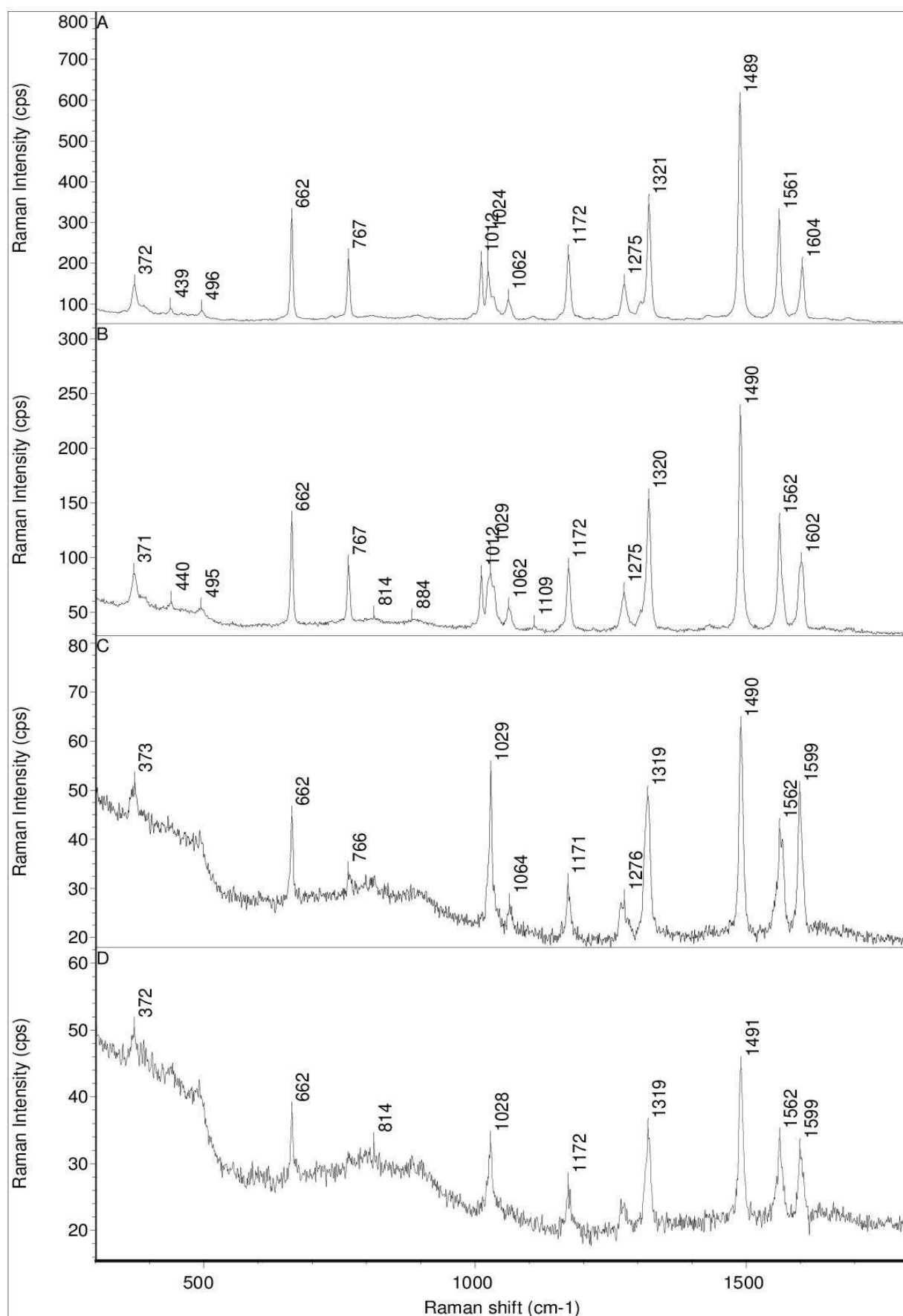
Nejprve byla určována mez SERS spektrální detekce pro systém s Cl⁻ modifikovaným BH hydrosolem AgNČ. SERS spektra bpy v systému BH hydrosol AgNČ/HCl/bpy byla proměřena v rozmezí $1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-9}$ M koncentrace bpy v systému (obr. 21). Mez SERS spektrální detekce byla stanovena jako $1 \cdot 10^{-8}$ M. Ve spektrech se vyskytují převážně spektrální pásy Ag(0)-bpy. Této formě adsorbovaného bpy odpovídají pásy při 661, 1023, 1319, 1488 (1492), 1560, 1602 cm⁻¹. Pásy, nacházející se u 1010, 1059 cm⁻¹ příslušejí formě Ag⁺-bpy, tato forma je ovšem minoritní a při koncentraci bpy v systému s BH hydrosolem odpovídající mezi SERS spektrální detekce převládá spektrální forma Ag(0)-bpy.

Následně byla určována mez SERS spektrální detekce bpy v systému HA hydrosolem. SERS spektra bpy v systému HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy byla proměřena v rozmezí $1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-10}$ M koncentrace bpy v systému (obr. 22). Tato mez byla stanovena jako $1 \cdot 10^{-9}$ M. V měřených systémech HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy je majoritní spektrální forma forma Ag(0)-bpy, které příslušejí pásy 662, 1029, 1172, 1319, 1490, 1562 a 1602 cm⁻¹. Pás detegovaný při 1012 cm⁻¹, který se vyskytuje při vyšších koncentracích bpy v aktivních systémech přísluší, spektrální formě Ag⁺-bpy.

Mez SERS spektrální detekce bpy při $\lambda_{\text{exc}} = 532$ nm je v systému HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy přibližně o 1 řád nižší než v systému BH hydrosol AgNČ/HCl/bpy. V obou typech chloridy modifikovaných hydrosolových systémů je dominantní detegovanou spektrální formou Ag(0)-bpy povrchový komplex. V případě systémů s HA hydrosolem modifikovaných přídavkem HCl dochází tedy k analogickým změnám jako v systémech s HCl modifikovaným BH hydrosolem, již dříve popsanych v práci [15], tj. přerůstání částic do kompaktních agregátů provázené tvorbou Ag(0) adsorpčních míst. HA hydrosol vykazuje účinnější přerůstání, rovněž účinnější tvorbu Ag(0) adsorpčních míst a lokalizaci těchto species v „hot spots“



Obr. 21: SERS spektra systémů BH hydrosol AgNČ/HCl/bpy v závislosti na koncentraci bpy v systému (A) $1 \cdot 10^{-4}$ M (B) $1 \cdot 10^{-6}$ M (C) $1 \cdot 10^{-8}$ M

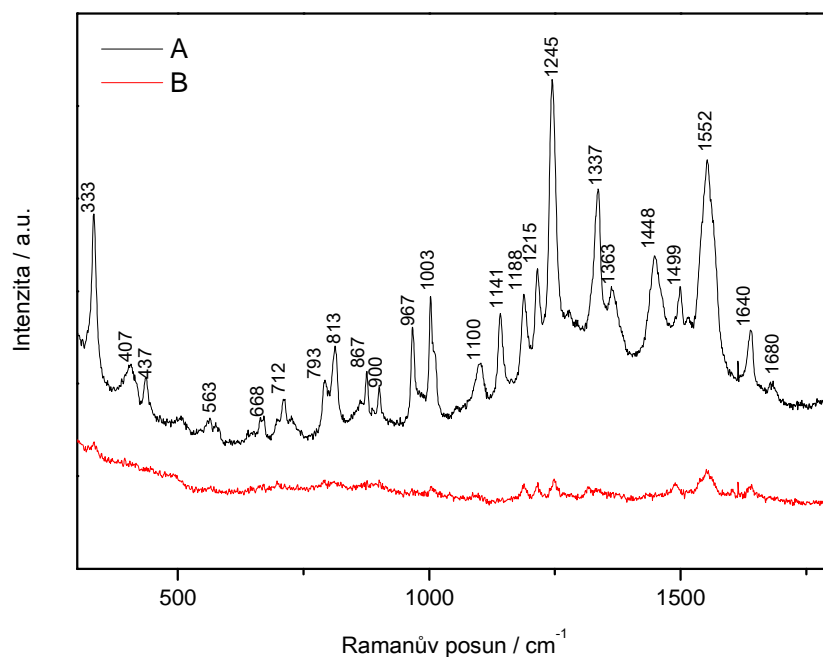


Obr. 22: SERS spektra systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy v závislosti na koncentraci bpy v systému (A) $1 \cdot 10^{-4}$ M (B) $1 \cdot 10^{-6}$ M (C) $1 \cdot 10^{-8}$ M (D) $1 \cdot 10^{-9}$ M

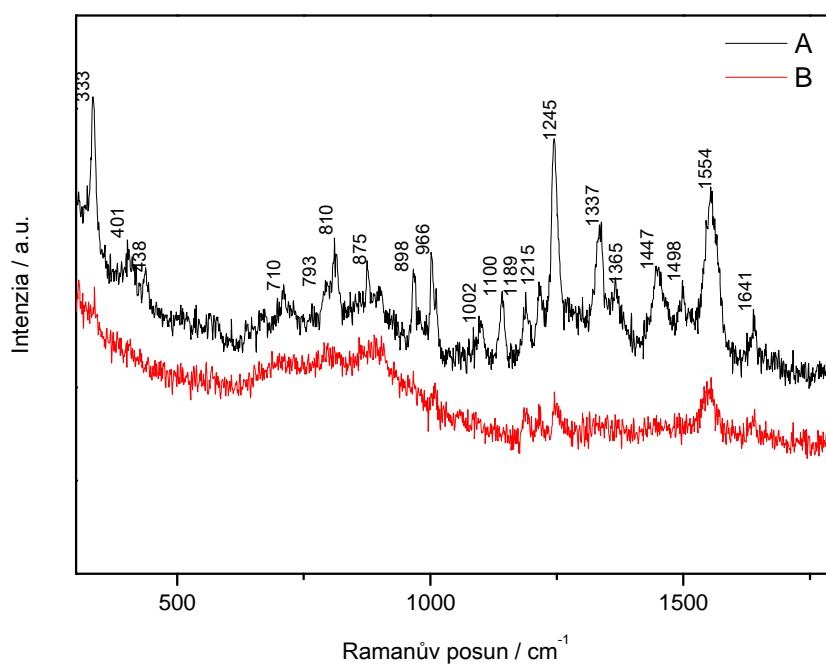
5.2.2. SERRS spektra systémů BH hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP a HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP a určení mezí SERS spektrální detekce porfyrinu

Opět byla nejprve určena mez SERS spektrální detekce pro s Cl⁻ modifikovaným BH hydrosol AgNČ. SERS spektra H₂TMPyP v systému BH hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP byla proměřena v rozmezí $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ M koncentrace H₂TMPyP v systému (obr. 23). Mez spektrální detekce byla stanovena jako $1 \cdot 10^{-7}$ M. Následně byla určena mez SERS spektrální detekce pro systém HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP. SERS spektra byla proměřena v rozmezí $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ M koncentrace H₂TMPyP v systému (obr. 24). Stejně jako pro systém BH hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP byla i pro systém HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP stanovena mez SERS spektrální detekce jako $1 \cdot 10^{-7}$ M, oba systémy tedy mají stejnou mez SERS spektrální detekce pro porfyrin H₂TMPyP při $\lambda_{\text{exc}} = 532$ nm.

V systémech BH hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP se vyskytuje H₂TMPyP ve formě volné báze, té přísluší pásy 333, 407, 967, 1003, 1189, 1215, 1242, 1337, 1363, 1448, 1554 a 1640 cm⁻¹. V aktivních HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP byl opět H₂TMPyP ve formě volné báze. Této formě přísluší pásy při 333, 401, 968, 1003, 1188, 1217, 1244, 1337, 1365, 1447, 1554 a 1641 cm⁻¹. Polohy charakteristických pásů porfyrinu v hydrosolových systémech, tj. 333, 967/968, 1003, 1337, 1365 a 1552/1554 (obr. 23,24) jsou v dobré shodě s pásy 334, 969, 1003, 1337, 1367, 1555 cm⁻¹ v RRS spektru mikrokrystallického H₂TMPyP (obr. 5).



Obr. 23: SERS spektra systémů BH hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP v závislosti na koncentraci H₂TMPyP v systému (A) 1·10⁻⁶ M (B) 1·10⁻⁷ M



Obr. 24: SERS spektra systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP v závislosti na koncentraci H₂TMPyP v systému (A) 1·10⁻⁶ M (B) 1·10⁻⁷ M. Ve spektru byla provedena korekce základní linie.

5.2.3. Vzájemné srovnání systémů s chloridy modifikovanými HA a BH hydrosoly a použitými testovacími adsorbáty

Při vzájemném porovnávání aktivních systémů BH či HA hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát bylo zjištěno, že mez spektrální detekce je pro testovací adsorbát bpy o 1 řád nižší u HA hydrosolu oproti BH hydrosolu, ovšem pokud je použit H₂TMPyP jako testovací adsorbát, je mez spektrální detekce pro oba hydrosoly totožná. Toto chování je pravděpodobně způsobeno tím, že v systémech HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy je výrazně vyšší extinkce (absorbance) při 532 nm než v systémech BH hydrosol AgNČ/HCl/bpy, což odpovídá i větší optické hustotě aktivních systémů (obr. 13C a 15D). V případě druhého testovacího adsorbátu v aktivních systémech BH či HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP již tak výrazný rozdíl v průběhu UV-vis spekter jako je v případě bpy není (obr. 14C a 16B). Extinkce při 532 nm je výrazně méně odlišná pro oba typy systémů než v případě již zmiňovaného bpy. Dále také v systému HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP ($c(\text{H}_2\text{TMPyP}) = 1 \cdot 10^{-7} \text{ M}$) dochází zřejmě k sedimentaci agregátů (SPE křivka systému s $1 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ H₂TMPyP pouze poklesla, ale nezměnila tvar vůči SPE křivce v systému s $1 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ H₂TMPyP), (obr. 16). Změnu v extinkci jednotlivých systémů dobře demonstrují poměry jednotlivých hodnot extinkce. Zatím co poměr extinkce v detekční limitě při $\lambda_{\text{exc}} = 532 \text{ nm}$ pro hydrosolové systémy obsahující bpy je 3,0 (výška extinkce pro systém s BH hydrosolem = 0,7 a pro systém s HA hydrosolem = 2,1), tak poměr extinkce v systémech obsahující H₂TMPyP je poměr extinkce jen 1,9 (výška extinkce pro systém s BH hydrosolem = 0,7 a pro systém s HA hydrosolem = 1,3).

Vzájemné porovnávání aktivních systémů také ukázalo, že mez spektrální detekce při $\lambda_{\text{exc}} = 532 \text{ nm}$ je výrazně nižší pro bpy než pro H₂TMPyP, ačkoliv H₂TMPyP je chromofor a díky SERRS by bylo možné očekávat mez spektrální detekce výrazně nižší právě pro H₂TMPyP. V systému s BH hydrosolem AgNČ je mez spektrální detekce pro bpy $1 \cdot 10^{-8} \text{ M}$ zatím co pro H₂TMPyP je $1 \cdot 10^{-7} \text{ M}$. Tento rozdíl od předpokládaného chování je způsoben tím, že bpy je detegován ve formě povrchového komplexu Ag(0)-bpy, pro který excitační profil vykazuje maximum přibližně při 540 nm [23] a $\lambda_{\text{exc}} = 532 \text{ nm}$ tedy spadá do blízkosti tohoto maxima. SERS Ag(0)-bpy povrchového komplexu tak vykazuje při $\lambda_{\text{exc}} = 532 \text{ nm}$ výrazný příspěvek chemického mechanismu SERSu. H₂TMPyP detegovaný jako volná báze H₂TMPyP, pro nějž elektronové absorpční spektrum (obr. 4) ukazuje, že zvolená excitační délka 532 nm spadá pouze do úpatí Q – pásu s maximem 519 nm. Hlavním důvodem nižší

meze detekce pro bpy než pro H₂TMPyP se jeví být vyšší příspěvek molekulární rezonance pro Ag(0)-bpy než pro H₂TMPyP při $\lambda_{\text{exc}} = 532 \text{ nm}$. V aktivním systému HA hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát je mez detekce pro bpy $1 \cdot 10^{-9} \text{ M}$ zatímco pro H₂TMPyP jen $1 \cdot 10^{-7} \text{ M}$. Rozdíl v mezích detekce je tedy ještě větší, ovšem zde v tomto případě je výsledek ovlivněn tím, že ze systému HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy, kdy koncentrace bpy odpovídá mezi detekce, agregáty nesedimentují, zatímco v systému HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP, kdy koncentrace H₂TMPyP odpovídá mezi detekce, agregáty sedimentují.

5.3. Měření SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů z mikroskopických agregátů v systémech HA hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát

Příprava toho systému je popsána v kapitole 4.2.4.1. Vzorek představují agregáty gravitačně sedimentované ze systémů hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát převrstvené tenkou vrstvou kapalně sedimentované ze systémů hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát převrstvené tenkou vrstvou kapalně sedimentované ze systémů hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát. SERS a SERRS spektrální měření byla prováděna se standardním objektivem poskytujícím 50ti násobné zvětšení. Podmínkou účinnosti měření je však sedimentace (a tudíž určitá nadkritická velikost) agregátů. Testované experimenty ukazují, že takové agregáty lze připravit pouze z aktivních systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát. V případě BH hydrosolu AgNČ jsou vzniklé agregáty příliš malé (a tudíž lehké) pro úspěšnou sedimentaci.

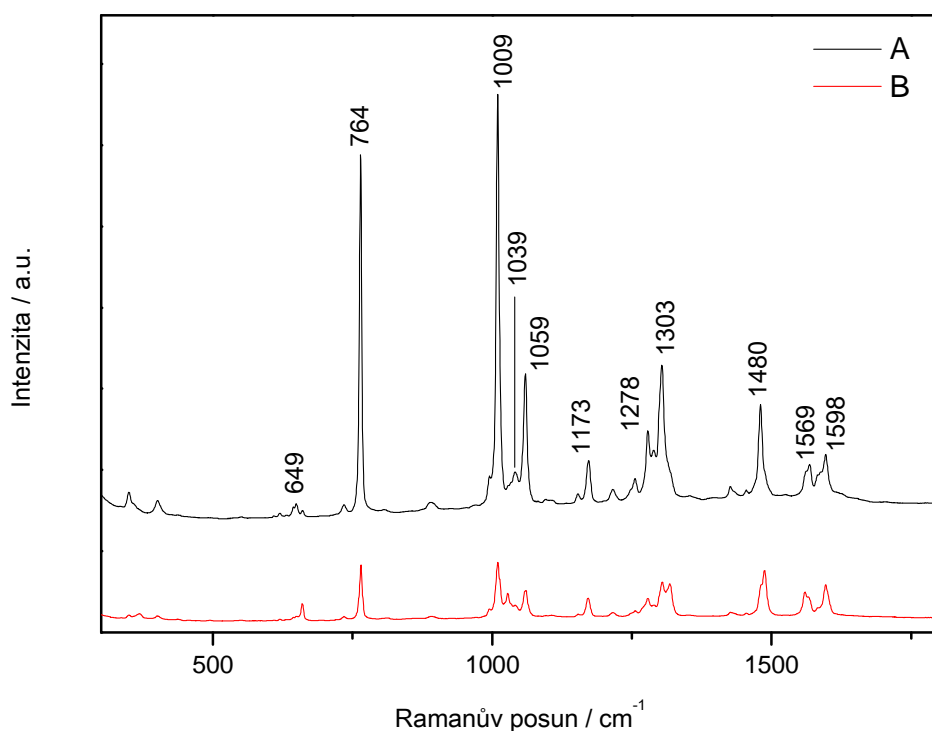
Ze vzorku tvořícího sedimentující mikroskopické agregáty ve vodném prostředí bylo umožněno prostřednictvím optického mikroskopu Ramanova mikrospektrometru vybrat jediný určitý agregát, zaměřit do něj excitující laserové záření a změřit z něj SERS nebo SERRS spektrum adsorbátu.

5.3.1. SERS spektra bpy měřená z jednotlivých mikroskopických agregátů jako funkce koncentrace bpy v systému a určení meze SERS spektrální detekce bpy

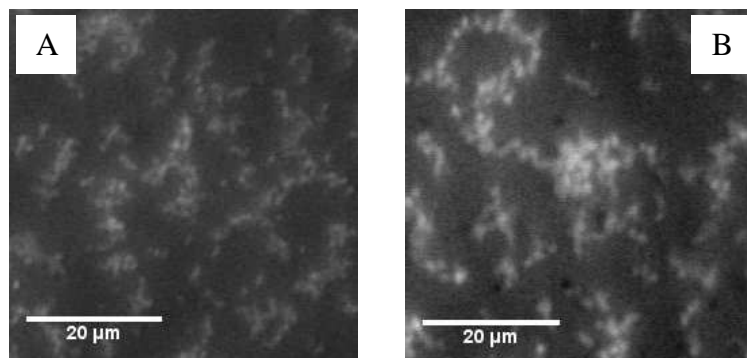
SERS spektra aktivních systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy získávaná z mikroskopických agregátů byla proměřena v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-6} \text{ M}$. SERS signál bpy byl detegován při koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ a $1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ bpy v systému. Při nižších koncentracích nebylo možné získat SERS signál, jelikož mikroskopické agregáty nebyly dostatečně velké a těžké, aby klesly na podložní sklo, ale pouze plovaly a pohybovaly se na povrchu kapky. V těchto systémech tedy nelze určit skutečnou mez SERS spektrální detekce bpy.

V SERS spektrech systémů o $c(\text{bpy}) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ a $1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ převládá spektrální forma $\text{Ag}^+\text{-bpy}$ (obr. 25), které příslušejí pásy při 765, 1009, 1059, 1303, 1480 a 1569 cm^{-1} . Méně zastoupené povrchové species $\text{Ag}(0)\text{-bpy}$ příslušejí pásy 649, 1170 a 1598 cm^{-1} . Snímky mikroskopických agregátů pořízené optickým mikroskopem jsou vyobrazeny na obr. 26.

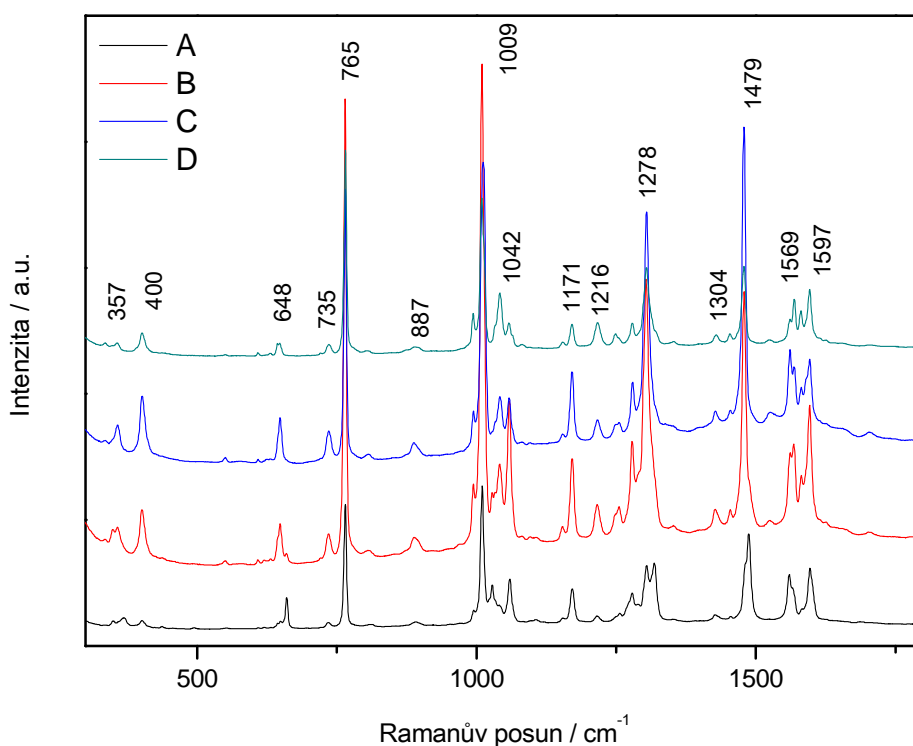
Jelikož v případě BH hydrosolu $\text{AgN}\check{\text{C}}$ obsah chloridů v aktivním systému ovlivňuje, zda dojde v aktivním systému i k vytvoření povrchové species $\text{Ag}(0)\text{-bpy}$ [15], bylo sledováno, zda vyšší přídavek zásobního roztoku 1 M HCl neovlivní generaci formy $\text{Ag}(0)\text{-bpy}$ rovněž v případě HA hydrosolu $\text{AgN}\check{\text{C}}$. Do aktivních systémů proto bylo přidáno postupně 30, 60 a 100 μl zásobního roztoku 1 M HCl. K výraznému nárustu signálu povrchové specie $\text{Ag}(0)\text{-bpy}$ ovšem nedochází ani při vyšším obsahu Cl^- v aktivních systémech, což dokazují získaná SERS spektra systémů HA hydrosol $\text{AgN}\check{\text{C}}/\text{HCl}/\text{bpy}$ (obr. 27). Snímky mikroskopických agregátů v závislosti na koncentraci HCl v systému pořízené optickým mikroskopem jsou vyobrazeny na obr. 28.



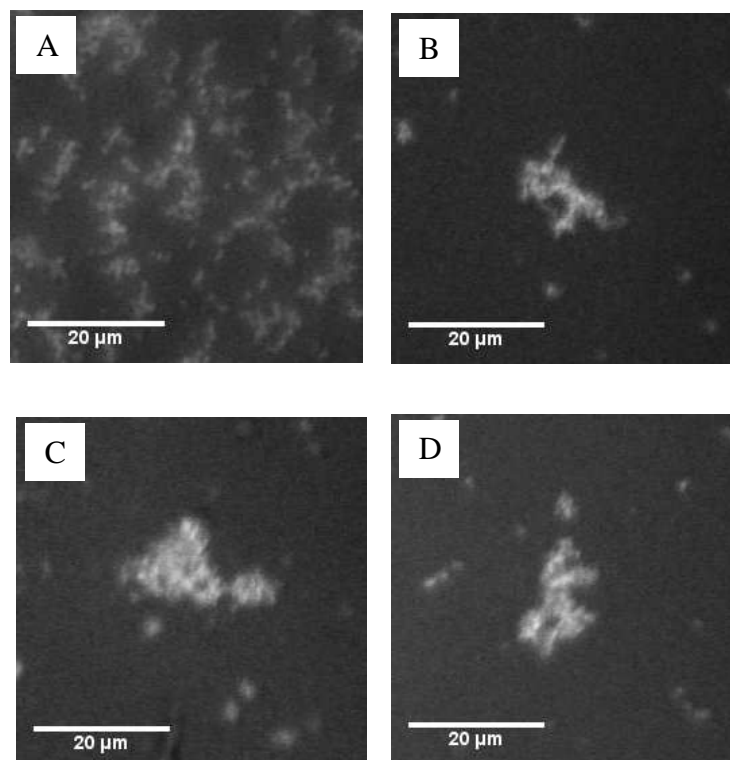
Obr. 25: SERS spektra aktivních systémů HA hydrosol $\text{AgN}\check{\text{C}}/\text{HCl}/\text{bpy}$ v závislosti na koncentraci bpy získané z mikroskopických agregátů: (A) $1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (B) $1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$. Ve spektrech byla provedena korekce na základní linii.



Obr 26: Snímky mikroskopických agregátů aktivních systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy v závislosti na koncentraci bpy: (A) $1 \cdot 10^{-4}$ M (B) $1 \cdot 10^{-5}$ M. Pořízeno optickým mikroskopem Ramanova mikrospektrometru.



Obr. 27: SERS spektra aktivních systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy jako funkce koncentrace HCl získané z mikroskopických agregátů: (A) 10 μ l 1M HCl (B) 30 μ l 1M HCl (C) 60 μ l 1M HCl (D) 100 μ l 1M HCl. Ve spektru byla



Obr. 28: Snímky mikroskopických agregátů aktivních systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy v závislosti na koncentraci HCl: (A) 10 µl 1M HCl (B) 30 µl 1M HCl (C) 60 µl 1M HCl (D) 100 µl 1M HCl. Pořízeno optickým mikroskopem Ramanova mikrospektrometru.

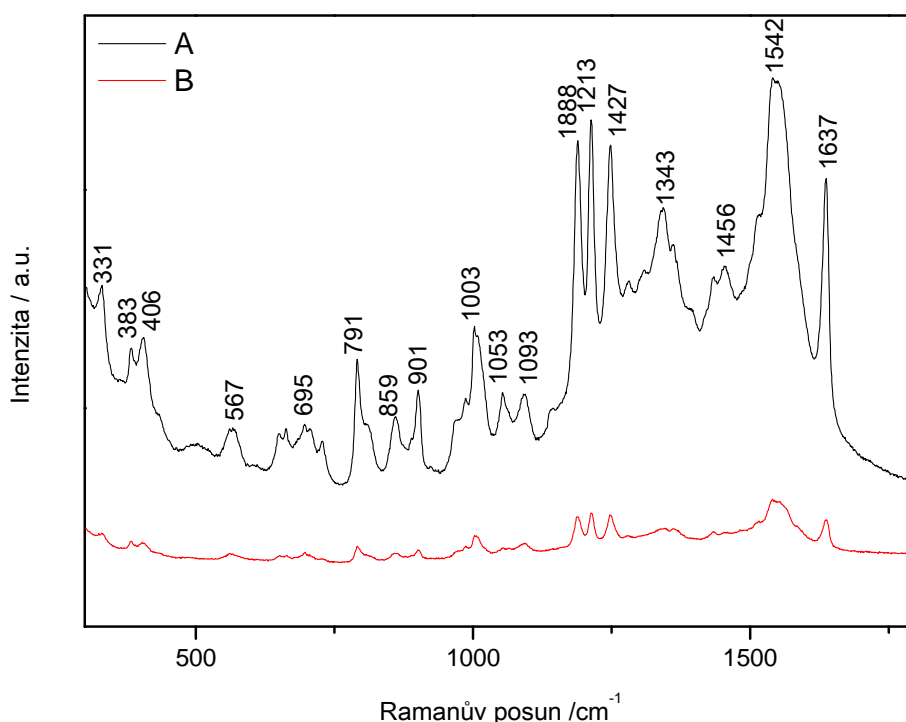
5.3.2. SERRS spektra H_2TMPyP měřená z jednotlivých mikroskopických agregátů jako funkce koncentrace H_2TMPyP v systému a určení meze SERRS spektrální detekce H_2TMPyP

SERRS spektra aktivních systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/ H_2TMPyP z mikroskopických agregátů byla proměřena v rozmezí koncentrací $1 \cdot 10^{-6}$ M – $1 \cdot 10^{-8}$ M porfyrinu H_2TMPyP . SERRS signál byl z mikroskopického agregátu detegován při koncentraci H_2TMPyP $1 \cdot 10^{-6}$ M a $1 \cdot 10^{-7}$ M. Jako poněkud problematická se ukázala tvorba agregátů při vyšších koncentracích H_2TMPyP v aktivním systému, konkrétně u koncentrace $1 \cdot 10^{-6}$ M. Aby bylo možné vůbec z mikroskopického agregátu získat signál, aktivní systém, ve kterém se tvořily mikroskopické agregáty, se musel vyvíjet nejméně po dobu nejméně 45 minut.

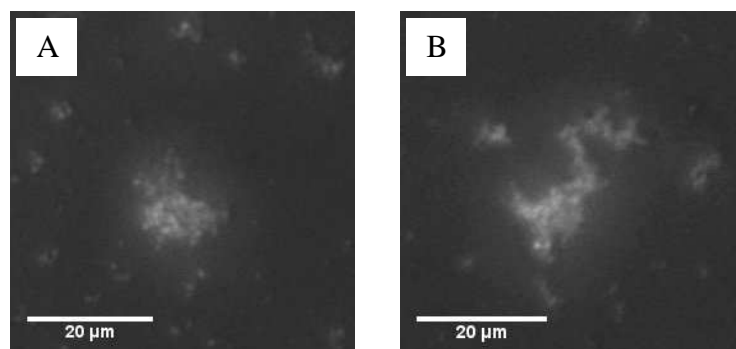
Signál získaný z mikroskopického agregátu, který obsahoval H_2TMPyP o koncentraci $1 \cdot 10^{-6}$ M byl dostatečně intenzivní, ovšem čas potřebný k vytvoření těchto

mikroskopických agregátů je poměrně dlouhý. Tvorba mikroskopických agregátů, které se tvořily v systémech, kde byla koncentrace H_2TMPyP $1 \cdot 10^{-7}$ M probíhala rychle a nebylo nutné podrobit systém časovému vývoji, ovšem signál poskytovaný těmito mikroskopickými agregáty byl výrazně nižší (obr. 29).

Ve spektrech získaných z mikroskopického agregátu obsahující H_2TMPyP jako testovací adsorbát, byly zastoupeny všechny povrchové species H_2TMPyP . Těm přísluší společné pásy při 1188, 1213, 1247 a 1637 cm^{-1} . Ve spektru převládají spektrální pásy povrchové species Ag^+-TMPyP , které přísluší pásy při 1249, 1346 a 1543 cm^{-1} . Nativní formě H_2TMPyP přísluší pásy u 331 a 1004 cm^{-1} a povrchové specii $\text{Ag}(0)-\text{TMPyP}$ přísluší pásy 384 a 1363 cm^{-1} . V mikroskopickém agregátu aktivního systému s obsahem $1 \cdot 10^{-6}$ M je nejvíce zastoupen signál povrchové species Ag^+-TMPyP . V mikroskopickém agregátu obsahující H_2TMPyP jehož koncentrace byla $1 \cdot 10^{-7}$ M byla poněkud více zastoupena forma H_2TMPyP , té kromě pásů u 331, 405 a 1007 cm^{-1} přísluší i pás při 1555 cm^{-1} . Mikroskopické snímky zobrazující mikroskopické agregáty systému HA hydrosol $\text{AgNČ}/\text{HCl}/\text{H}_2\text{TMPyP}$ jsou vyobrazeny na obr. 30.



Obr. 29: SERRS spektra aktivních systémů HA hydrosol $\text{AgNČ}/\text{HCl}/\text{H}_2\text{TMPyP}$ v závislosti na koncentraci H_2TMPyP získaná z mikroskopických agregátů: (A) $1 \cdot 10^{-6}$ M (B) $1 \cdot 10^{-7}$ M. Ve spektrech byla provedena korekce základní linie.



Obr. 30: Snímky mikroskopických agregátů aktivních systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP v závislosti na koncentraci H₂TMPyP: (A) 1·10⁻⁶ M (B) 1·10⁻⁷ M. Pořízeno optickým mikroskopem Ramanova mikrospektrometru.

5.4. Měření SERS a SERRS spekter testovacích adsorbátů z jednotlivých makroskopických agregátů v systémech HA hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát

Dalším testovaným systémem byl makroskopický agregát vytvořený spojením z menších agregátů, které se v důsledku třepání vytvořily v aktivních hydrosolových systémech. Příprava těchto systémů je popsána v kapitole 4.2.4.2, stejně tak jako její grafické znázornění (obr. 9). Tyto agregáty je možné opět připravit pouze z HA hydrosolu AgNČ.

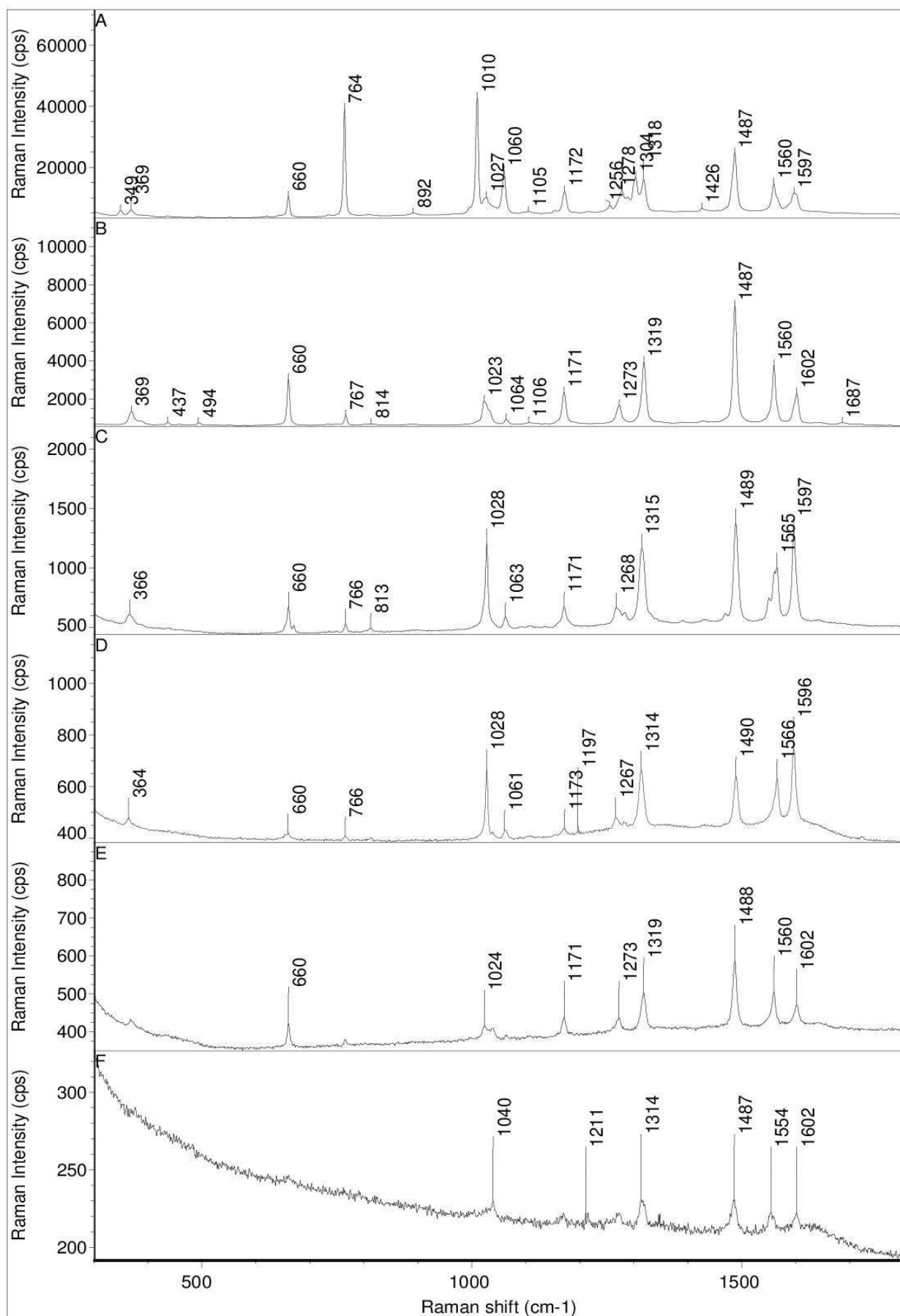
SERS a SERRS spektrální měření byla prováděna se standardním objektivem poskytujícím 10ti násobné zvětšení. Prostřednictvím optického mikroskopu Ramanova mikrospektrometru bylo možné zaměřit excitující laserové záření do určitého místa na makroskopickém agregátu a z něj bylo následně možné změřit SERS nebo SERRS spektrum adsorbátu.

5.4.1. SERS spektra bpy měřená z makroskopických agregátů jako funkce bpy v systému a určení meze SERS spektrální detekce

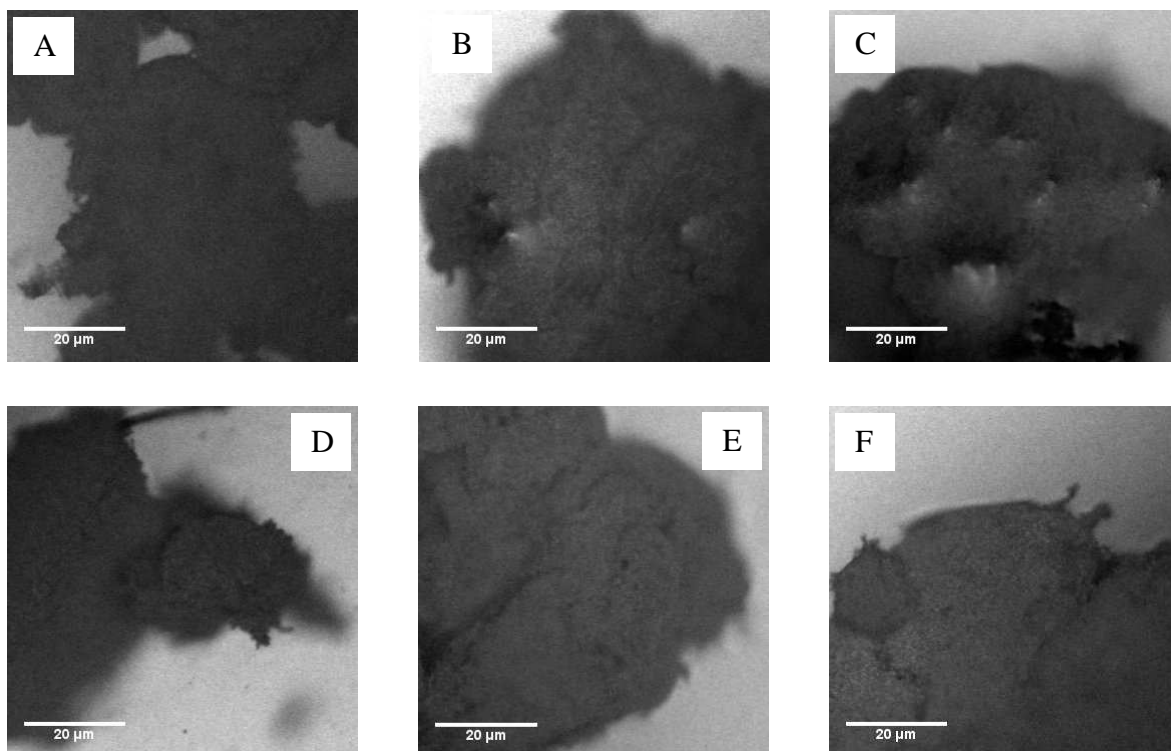
SERS spektra aktivních systémů HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy získávané z makroskopických agregátů byla proměřena v koncentračním rozmezí 1·10⁻⁴ – 1·10⁻¹¹ M. Mez SERS spektrální detekce byla určena jako 1·10⁻¹⁰ M (obr.31). Mikroskopické snímky makroskopických agregátů aktivních systémů jsou na obr.32. Uvedená mez SERS spektrální detekce je o 1 řád nižší než je mez stanovená pro hydrosolový systémy HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy změřený v kyvetě. Z makroskopického agregátu jsou získávána výrazně intenzivnější spektra než

z mikroskopického agregátu a zároveň tento systém poskytuje i nižší mez detekce bpy než samotný hydrosolový systém měřený v kyvetě, ovšem při získávání signálu při koncentracích bpy v systému odpovídající mezi SERS spektrální detekce je nutné příslušný signál na různých místech agregátu vyhledávat. To zřejmě odpovídá nerovnoměrnému rozložení molekul bpy v agregátu a signál je pravděpodobně získáván pouze z míst, kde se nachází větší počet molekul bpy v místech největšího zesílení (tj. v „hot – spots“).

Ve spektrech všech systémů, kromě systému s nejvyšší ($1 \cdot 10^{-4}$ M) koncentrací bpy, převládá signál povrchové species Ag(0)-bpy, příslušejí jí pásy při 660, 766, 1171, 1273, 1318, 1487, 1560 a 1602 cm^{-1} . Povrchová species Ag^+ -bpy je zastoupena pouze pásy při 1010 a 1304 cm^{-1} ve spektru s nejvyšší koncentrací bpy (obr.31).



Obř. 31: SERS spektra aktivních systémů HA hydrogel AgNC/HCl/bpy v závislosti na koncentraci bpy získané z makroskopických agregátů: (A) 10⁻⁴ M (B) 10⁻⁵ M (C) 10⁻⁶ M (D) 10⁻⁸ M (E) 10⁻⁹ M (F) 10⁻¹⁰ M

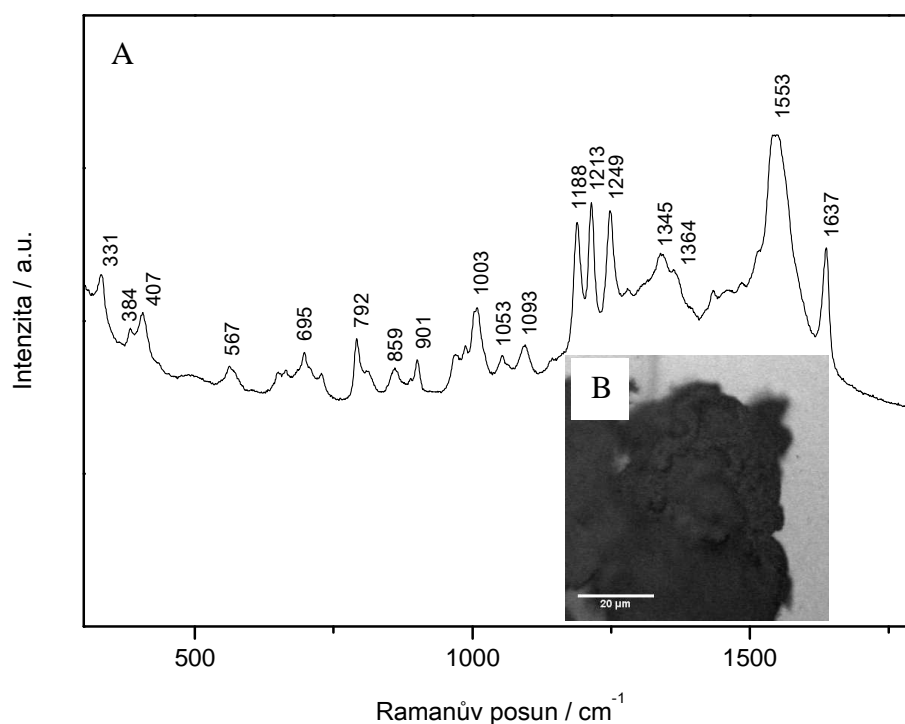


Obr 32: Snímky makroskopických agregátů získaných aktivních systémů HA hydrogel AgNC/HCl/bpy v závislosti na koncentraci bpy: (A) $1 \cdot 10^{-4}$ M (B) $1 \cdot 10^{-5}$ M (C) $1 \cdot 10^{-6}$ M (D) $1 \cdot 10^{-8}$ M (E) $1 \cdot 10^{-9}$ M (F) $1 \cdot 10^{-10}$ M

5.4.2. SERRS spektra H_2TMPyP měřená z makroskopických agregátů jako funkce koncentrace H_2TMPyP v systému a určení meze SERRS spektrální detekce

Z makroskopického agregátu obsahující H_2TMPyP jako testovací adsorbát byl signál získán pouze v případě makroskopického agregátu, připraveného v systému, v němž koncentrace H_2TMPyP byla $1 \cdot 10^{-7}$ M (obr. 33A). Aktivní systémy tvořící makroskopické agregáty byly proměřeny v rozmezí $1 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-8}$ M koncentrace porfyrinu H_2TMPyP . Systémy obsahující porfyrin H_2TMPyP ve vyšších koncentracích tvořily pouze mikroskopické agregáty, které nebyly dostatečně velké, aby z nich mohl být vytvořen agregát makroskopický.

Spektrum získané z makroskopického agregátu obsahuje především H_2TMPyP ve formě volné báze. Této formě přísluší pásy 333, 407, 792, 1003, 1189, 1215, 1249, 1553 a 1639 cm^{-1} . Pásy 384 a 1364 cm^{-1} přísluší povrchové specii $Ag(0)\text{-}TMPyP$. Poslední spektrální forma H_2TMPyP , $Ag^+\text{-}TMPyP$ je zastoupena jedním pásem při 1345 cm^{-1} . Mikroskopický snímek makroskopického agregátu je na obr. 33B.



Obr. 33: (A) SERS spektrum aktivního systému HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP získaného z makroskopického agregátu o koncentraci H₂TMPyP $1 \cdot 10^{-7}$ M. (B) Snímek makroskopického agregátu aktivního systému HA hydrosol AgNČ/HCl/H₂TMPyP

5.5. Výhody a nevýhody SERS a SERRS spektrálních měření z gravitačně sedimentovaných agregátů převrstvených tenkou vrstvou vodné fáze v systémech HA hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát

K výhodám měření z mikroskopických či makroskopických agregátů je zaměření určitého agregátu či místa na agregátu, ze kterého je snímán SERS či SERRS signál a dále také měření probíhá v malém objemu vzorku. Jelikož jsou agregáty převrstvené tenkou vrstvou matečného roztoku, dochází ke snížení rizika destrukce agregátu. Měření SERS a SERRS spekter adsorbátů ze sedimentovaných agregátů ve vodném prostředí oproti měření spekter z agregátů bez přítomnosti vodné fáze vede k minimalizaci rizika tepelného rozkladu adsorbátu. Přítomnost vodné fáze totiž usnadňuje odvod tepla, jehož vznik je důsledkem absorpce excitujícího záření agregáty AgNČ. Tepelný rozklad agregátů se nejčastěji projevuje výskytem rušivých pásů grafitického uhlíku, přítomného v měřených SERS či SERRS spektrech.

Značnou nevýhodou mikroskopických agregátů je fakt, že pouze z dostatečně velkých gravitačně sedimentovaných agregátů lze získat SERS či SERRS signál. Tento

problém nenastává u makroskopických agregátů, což bylo dokázáno i výrazně nižší mezí SERS spektrální detekce pro systém HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy, kdy mez detekce je z makroskopického agregátu o 1 řád nižší než pro systém měřený v kyvetě. Při porovnání systémů z bpy měřených makroskopických a mikroskopických agregátů se ukazuje, že v případě mikroskopických agregátů buď nedocházelo k účinnému přerůstání AgNČ nebo docházelo k oxidaci adsorpčních míst při „plování“ agregátů, což dokazuje přítomnost Ag^+ adsorpčních míst. Naopak v makroskopických agregátech byla detegována povrchová species Ag(0)-bpy v rozmezí $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-10}$ M koncentrace bpy v systému.

Celkově lze říci, že měření SERS spekter z makroskopických agregátů je výhodné, jelikož mez SERS spektrální systém obsahující bpy byla stanovena jako $1 \cdot 10^{-10}$ M. Nízká mez detekce má původ v současném působení EM mechanismu a chemického mechanismu SERSu Ag(0)-bpy povrchového komplexu při $\lambda_{\text{exc}} = 532$ nm, pro něj se maximum fotoindukovaného přenosu náboje Ag(0)-bpy(π^*) nachází při 540 nm [23]. Jak již bylo zmíněno, mez SERS spektrální detekce Ag(0)-bpy při $\lambda_{\text{exc}} = 532$ nm je makroskopickém agregátu o 1 řád nižší než v hydrosolovém systému, je však patrně prostorově heterogenní rozložení signálu. Nízká mez detekce spolu s nerovnoměrným rozložením signálu ukazují na přítomnost „hot spots“ v agregátech a na lokalizaci molekul v „hot spots“. Signál je pak získáván z toho místa v agregátu, kde je dostatečný počet molekul v „hot spots“. V hydrosolových systémech jsou molekuly bpy rovněž lokalizovány v „hot spots“, ovšem v důsledku pohybu agregátů v hydrosolu AgNČ jde o tzv. zprůměrovaný („ensemble averaged“) systém. Tomuto systému, který je z hlediska signálu homogenní, odpovídá o 1 řád vyšší mez detekce.

Mechanismus tvorby kompaktních agregátů v důsledku modifikace AgNČ v HA hydrosolu je zřejmě ovlivněn jak přítomností adsorbátu, tak způsobem jeho navázání k Cl^- modifikovanému povrchu AgNČ a pravděpodobně také i velikostí molekuly a její orientací k povrchu.

V systémech HA hydrosol AgNČ/HCl/bpy o koncentraci bpy $1 \cdot 10^{-4}$ M je koncentrace bpy vyšší než vypočtená koncentrace potřebná k pokryvu AgNČ v HA hydrosolu monovrstvou molekul bpy. Tato skutečnost mohla bránit účinnému přerůstání AgNČ a vést k zamezení tvorby Ag(0) adsorpčních míst. Počet molekul bpy tvořící monovrstevný pokryv ve 2 ml HA hydrosolu AgNČ je přibližně $1,0 \cdot 10^{16}$, což odpovídá přibližně $8,5 \cdot 10^{-6}$ M koncentraci bpy v systému. V případě H_2TMPyP při koncentraci $1 \cdot 10^{-6}$ M došlo k výraznému snížení rychlosti přerůstání částic (až 45 min). Počet

molekul H_2TMPyP tvořící monovrstevný povrch je přibližně $1,3 \cdot 10^{15}$, což odpovídá přibližně $1,0 \cdot 10^{-6}$ M koncentraci H_2TMPyP v systému. Tedy v aktivním systému obsahující $1 \cdot 10^{-6}$ M H_2TMPyP se koncentrace blíží koncentraci potřebné k monovrstevnému povrchu. Obdobně jako v případě systému s vysokou ($1 \cdot 10^{-4}$ M) koncentrací bpy v systému snižovala zřejmě přítomnost H_2TMPyP ve vyšší koncentraci ($1 \cdot 10^{-6}$ M) rychlost přerůstání AgN_3 a tvorbu jejich kompaktních agregátů.

6. Závěr

Hlavním cílem práce bylo charakterizovat HA hydrosol AgNČ po modifikaci AgNČ chloridy, jako nový typ SERS aktivního povrchu a porovnat jeho účinnost s BH hydrosol AgNČ po modifikaci chloridy, který patří v současnosti k běžně využívaným aktivním povrchům. HA hydrosol AgNČ se ukázal jako vhodný aktivní povrch, což bylo prokázáno zejména určením mezí SERS a SERRS spektrální detekce testovacích adsorbátů. V případě aktivních systémů obsahující bpy jako testovací adsorbát byla stanovena mez SERS spektrální detekce bpy v systému s BH hydrosol AgNČ modifikovaným přídavkem HCl jako $1 \cdot 10^{-8}$ M a v systému s HA hydrosol AgNČ modifikovaným přídavkem HCl jako $1 \cdot 10^{-9}$ M. V případě aktivních systémů obsahující jako testovací adsorbát porfyrin H_2TMPyP byla mez SERRS spektrální detekce pro oba hydrosolové systémy stejná a to $1 \cdot 10^{-7}$ M. Ovšem v systému s Cl^- modifikovaným HA hydrosol AgNČ docházelo k sedimentaci agregátů.

V obou hydrosolích dochází v důsledku přídavku HCl k tvorbě kompaktních agregátů, která je spojena se vznikem Ag(0) adsorpčních míst. HA hydrosol AgNČ je opticky hustší, má větší povrch částic (ve 2 ml HA hydrosolu AgNČ je povrch částic cca $4,1 \cdot 10^{17} \text{ Å}^2$, ve 2 ml BH hydrosolu AgNČ je povrch částic cca $3,2 \cdot 10^{17} \text{ Å}^2$) a po přídavku HCl dochází v HA hydrosolu AgNČ k účinnějšímu přerůstání AgNČ. V případě některých adsorbátů, např. H_2TMPyP o koncentraci $1 \cdot 10^{-7}$ M může docházet také k částečné sedimentaci vzniklých agregátů AgNČ.

Větší velikost AgNČ a jejich účinnější přerůstání AgNČ v HA hydrosolu než v BH hydrosolu vede ke vzniku větších agregátů, které gravitačně sedimentují a poskytují tak možnost měření SERS či SERRS spekter adsorbátů z jediného gravitačně sedimentovaného mikroskopického agregátu převrstveného vrstvou vodné fáze. SERS a SERRS spektra poskytují rovněž makroskopické agregáty, vznikající cíleným spojením agregátů mikroskopických. SERS a SERRS spektrální měření je výhodnější provádět z makroskopických agregátů, které snadno sedimentují a jsou schopné poskytovat nízké meze spektrální detekce testovacích adsorbátů. V případě bpy byla tato mez stanovena jako $1 \cdot 10^{-10}$ M, v případě H_2TMPyP jako $1 \cdot 10^{-7}$ M. V případě měření z mikroskopických agregátů byl signál bpy získán z aktivního systému o koncentraci bpy $1 \cdot 10^{-5}$ M pro H_2TMPyP byl signál zachycen při koncentraci $1 \cdot 10^{-7}$ M. Velikost mikroskopických agregátů tvořících se v systémech s nižší koncentrací testovacího adsorbátu je příliš malá na to, aby došlo k jejich sedimentaci a následně i samotnému zisku SERS či SERRS signálu. SERS a SERRS spektrální měření

adsorbátů lokalizovaných na mezifázi pevná fáze/kapalná fáze (voda) značně snižuje riziko tepelného rozkladu adsorbátu v průběhu SERS a SERRS spektrálních měření ve srovnání s měřeními z gravitačně sedimentovaných agregátů na vzduchu, kde je adsorbát umístěn na mezifázi pevná fáze/plynná fáze (vzduch).

Tato výhoda byla prokázána pro případ biologicky významné molekuly porfyrinu H_2TMPyP , při SERRS spektrálních měřeních ve vodou převrstvených sedimentovaných agregátech. Tato měření na rozdíl od měření SERRS spekter ze sedimentovaných agregátů na vzduchu proběhla bez jakýchkoliv spektrálních projevů rozkladu porfyrinu H_2TMPyP na grafitický uhlík.

Nicméně pro další studium povrchem modifikovaných optických procesů porfyrinu H_2TMPyP je poněkud problematická současná detekce tří různých povrchových species (H_2TMPyP , $Ag(0)-TMPyP$, $Ag^+-TMPyP$). Lze předpokládat, že tato metodika měření by byla výhodnější pro studium povrchem modifikovaných optických procesů kationtových metaloporfyrinů např. $Zn(II)TMPyP$ nebo $Cu(II)TMPyP$ elektrostatickou interakcí navázaných na chloridy modifikované povrchy $AgN\check{C}$.

7 Seznam použité literatury

- [1] Le Ru, E.C.; Etchegoin, P.G. *Principles of Surface-enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects*, Elsevier, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2009
- [2] Aroca, R. *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Ltd.: Chichester, U.K., 2006
- [3] Kneipp, K.; Moskovits, M.; Kneipp, H. *Surface-Enhanced Raman Scattering. Physics and Applications.*, Topics in Applied Physics, Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, 2006, 103
- [4] Schlucker, S., Ed. *Surface Enhanced Raman Spectroscopy. Analytical, Biophysical and Life Science Applications*, Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2011
- [5] Moskovits, M. *Rev. Mod. Phys.* **1985**, 57, 783 - 826
- [6] Cialla, D.; Marz, A.; Bohme, R.; Theil, F.; Weber, K.; Schmitt, M.; Popp, J. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, 403, 27 – 54
- [7] Le Ru, E.C.; Etchegoin, P.G. *Ann. Rev. Phys. Chem.* **2012**, 63, 65 – 87
- [8] Xu, H.; Aizpurua, J.; Kall, M.; Apell, P. *Phys. Rev. E* **2000**, 62, 4318 – 4324
- [9] Johansson, P.; Xu, H.; Kall, M. *Phys. Rev. B* **2006**, 72, 035427-1-035427-16
- [10] Procházka, M.; Mojzeš, P.; Štěpánek, J.; Vlčková, B.; Turpin, P.Y. *Anal. Chem.* **1997**, 69, 5103 – 5108
- [11] Šišková, K.; Vlčková, B.; Turpin, P.Y.; Thorel, A.; Procházka, M. *J. Phys. Chem. C* **2011**, 115, 5404 – 5412
- [12] Šimáková, P.; Procházka, M. *J. Mol. Struct.* **2011**, 993, 425 – 427
- [13] Šimáková, P.; Procházka, M.; Kočišová, E. *Spectroscopy: An International Journal* **2012**, 27, 449 – 453
- [14] Leopold, N.; Lendl, B. A. *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 5273 – 5727
- [15] Šloufová, I.; Šišková, K.; Vlčková, B.; Štěpánek, J. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, 10, 2233 – 2242
- [16] Procházka, M.; Vlčková, B.; Štěpánek, J.; Turpin, P.Y. *Langmuir* **2005**, 21, 2956 – 2962
- [17] Vlčková, B.; Pavel, I.; Sládková, M.; Šišková, K.; Šlouf, M. *J. Mol. Struct.* **2007**, 834, 42 – 47
- [18] Fojtik, A.; Henglein, A. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem* **1993**, 97, 252 – 254

- [19] Creighton, J.A.; Blatchford, C.G.; Albrecht, M.G. *J. Chem. Soc. 2, Faraday Trans.* **1979**, 75, 790 – 798
- [20] Suh, J.S.; DiLella, D.P.; Moskovits, M. *J. Chem. Phys.* **1983**, 87, 1540 – 1544
- [21] Vlčková, B.; Gu, X.J.; Tsai, D.P.; Moskovits, M. *J. Phys. Chem* **1996**, 100, 3169 – 3174
- [22] Laserna, J.J.; Torres, E.L.; Winefordner, J.D. *Anal. Chim. Acta.* **1987**, 200, 469 – 480
- [23] Srnová – Šloufová, I.; Snoeck, T.L.; Matějka P. *Inorg. Chem.* **2000**, 39, 3551 – 3559
- [24] Fornasiero, D.; Grieser, F. *J. Phys. Chem.* **1987**, 87, 3213 – 3217
- [25] Zhang, P.; Haslett, T.L.; Douketis, C.; Moskovits, M. *Phys. Rev. B.* **1998**, 57, 15513 – 15518
- [26] Stockman, M.I.; Shalaev, V.M.; Moskovits, M.; Botet, R.; Goerge, T.F. *Phys. Rev. B* **1992**, 46, 2821 – 2830
- [27] Ahern, A.A.; Garrell, R.L. *Anal. Chem* **1987**, 59, 2813 – 2816
- [28] Vlčková, B.; Matějka, P.; Šimonová, J.; Čermáková, K. *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 9717 – 9729
- [29] Larmour, I.A.; Faulds, K.; Graham, D. *J. Raman Spectrosc.* **2012**, 43, 202 – 206
- [30] Lee, P.C.; Meisel D. *J. Phys. Chem* **1982**, 86, 3391 – 3395
- [31] Srnová-Šloufová, I.; Vlčková, B.; Bastl, Z.; Hasslet, T.L.; *Langmuir* **2004**, 20, 3407 – 3415
- [32] Sládková, M.; Vlčková, B.; Mojzeš, P. Šlouf, M. *Faraday Discuss.* **2006**, 132, 121 – 134
- [33] Šloufová, I.: Dizertační práce, PřF UK Praha, 2000
- [34] Munsok, K.; Koichi, I. *J. Electroanal. Chem.* **1985**, 188, 137 – 151

8. Seznam zkratk

AgNČ	stříbrné nanočástice
bpy	2,2'-bipyridyl
H ₂ TMPyP	5,10,15,20-tetrakis(1-methyl-4-pyridiumyl)-21H,23H-porfin
EM	elektromagnetický mechanismus
HA hydrosol	hydrosol AgNČ připravený redukcí dusičnanu stříbrného chloridem hydroxylem amonným (NH ₂ OH·HCl)
BH hydrosol	hydrosol AgNČ připravený redukcí dusičnanu stříbrného tetrahydridoboritanem sodným (NaBH ₄)
SERS	povrchem zesílený Ramanův rozptyl (Surface enhanced Raman scattering)
SERRS	povrchem zesílený rezonanční Ramanův rozptyl (Surface enhanced resonance Raman scattering)
RRS	rezonanční Ramanův rozptyl
CT	přenos náboje (charge transfer)
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
SPE	spektra plasmonové extinkce (surface plasmon extinction)
UV/vis	spektroskopie v ultrafialové a viditelné oblasti
BH či HA hydrosol AgNČ/HCl/adsorbát	aktivní systém vytvořený z 2 ml BH či HA hydrosolu, 10 µl 1M HCl a 20 µl zásobního roztoku testovacího adsorbátu